

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN CAMPO 1**

**“EFECTO DE LA PRODUCCION DE AFLATOXINAS EN GRANOS DE  
MAIZ DE CUATRO VARIEDADES DIFERENTES”**

**PRESENTA: ALEJANDRA VIRIDIANA HERNANDEZ RODRIGUEZ**  
**CARRERA: INGENIERIA EN ALIMENTOS**

**ASESORES: M en C. CAROLINA MORENO RAMOS**  
**M en C. JUAN CARLOS DEL RIO GARCIA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**QUIERO DEDICAR ESTE TRABAJO A:**

**DIOS por concederme el DON de la vida.**

**A mi papá porque ha sido y será mi mejor ejemplo y la fuerza que me motivo día con día a seguir adelante. Te quiero mucho.**

**A mi mamá que con su ternura confortó los momentos más angustiantes en mi vida y la luz en mi camino. Te quiero mucho.**

**A mi hermano porque aun cuando discutimos te quiero y te querré siempre.**

**A mis abuelas Paz y Margarita por todas sus bendiciones y cariños que le han dado paz a mi vida.**

**A mis tías Cruz, Ángela, Paz, Lety y Lupe por su apoyo incondicional.**

**A mis tíos primos y sobrinos por darme momentos de alegría cuando hemos tenido la oportunidad de convivir.**

**Gracias a toda mi familia por existir.**

**A ti Antonio porque al llegar a mi vida la llenaste de amor y ser el mejor motivo para vivir gracias por tu apoyo y tu amor incondicional. Gracias por invitarme a formar parte de tu familia.**

**Dedico este trabajo en especial a Eduardo mi primo y a mi Abuelo Eulalio (q.e.p.d.) que aunque ya no están conmigo se encuentran siempre cerca de mí, con todo mi cariño gracias por haber sido parte importante de mi vida.**

**Mil gracias a mi Alma mater y Maestros por compartir sus infinitos conocimientos y herramientas y estoy orgullosa de haber pertenecido a la mejor institución educativa de nivel superior la UNAM. Gracias a la UNIGRAS por el apoyo y las facilidades para la realización de este trabajo.**

**A mis asesores Carolina y Juan Carlos por adoptarme como su hija y porque sin su apoyo este trabajo no se hubiera podido concretar.**

**A mis mejores amigas: Eli, Gina, Liz, Eva, Ileana, Magali, Paty y Sandra por compartir felices y crudos momentos durante el período académico que estuvimos juntas,**

**A Servando por el gran ser humano que eres y que cuando necesite del apoyo de alguien en los momentos más difíciles siempre estuviste ahí.**

# INDICE

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCION	1
JUSTIFICACION	5
<b>CAPITULO I</b>	
1. MAIZ	7
1.1.1 ANTECEDENTES	7
1.1.2 ORIGEN DE MAIZ	7
1.1.3 CLASIFICACION DEL MAIZ	9
1.1.3.1 BOTANICA	9
1.1.3.2 TAXONOMICA Y ESTRUCTURAL	10
1.1.3.3 PRINCIPALES ESPECIES DE MAIZ	12
1.1.3.4 COMERCIAL	15
1.1.4 GENERALIDADES DEL MAIZ	18
1.1.5 CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES	18
1.1.6 ESTRUCTURA DEL GRANO	19
1.1.7 COMPOSICION QUIMICA GENERAL DEL MAIZ	23
1.1.8 PIGMENTOS DEL MAIZ	33

1.1.9	COLORANTES PRESENTES EN EL MAIZ	34
1.1.10	IMPORTANCIA DEL MAIZ	36
1.2	MICOTOXINAS	37
1.3	HISTORIA	37
1.4	BIOSINTESIS O SINTESIS DE AFLATOXINAS	41
1.5	CONDICIONES PARA EL DESARROLLO DE LAS AFLATOXINAS	42
1.5.1	FACTORES BIOLÓGICOS	45
1.5.2	FACTORES QUÍMICOS	47
1.5.3	FACTORES AMBIENTALES	48
1.6	AFLATOXINAS Y SUS EFECTOS	52
1.7	PRODUCCIÓN DE AFLATOXINAS EN MAIZ	55
1.8	PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DEL MAIZ CON AFLATOXINAS EN EL CAMPO	57
1.9	CONTROL DESPUÉS DE LA COSECHA Y DESCONTAMINACIÓN	58
1.10	DESCONTAMINACIÓN DE LOS ALIMENTOS CON AFLATOXINAS	59
1.11	TRATAMIENTOS QUÍMICOS	59

1.11.1 TRATAMIENTOS FISICOS 64

1.11.2 METODOS PARA DETECTAR Y CUANTIFICAR AFLATOXINAS EN MAIZ 66

## **CAPITULO II**

2 OBJETIVO 74

2.1 DESCRIPCION DEL CUADRO METODOLOGICO 75

- Actividad 1.1 Contenido de Humedad 75
- Actividad 2.1 Características físicas del grano 76
- Actividad 3.1 Extracción de pigmentos 77
- Actividad 4.1 Determinación y cuantificación de aflatoxinas 80

## **CAPITULO III**

3. RESULTADOS 83

- Contenido de Humedad 83
- Características físicas del grano 84
- Extracción de pigmentos 85
- Determinación y cuantificación de aflatoxinas 86

## **CAPITULO IV**

4. DISCUSION DE RESULTADOS 91

**CONCLUSIONES** 96

**REFERENCIAS CITADAS** 97



## INDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
FIGURA 1 CLASIFICACION TAXONOMICA DEL MAIZ	11
FIGURA 2 LA ESTRUCTURA DEL MAIZ	19
FIGURA 3 ESTRUCTURA DE LAS AFLATOXINAS MAS CONOCIDAS	54
FIGURA 4 CUADRO METODOLOGICO	73
FIGURA 5 DIAGRAMA DE BLOQUES PARA LA EXTRACCION DE PIGMENTOS DEL MAIZ	78
FIGURA 6 COLOCACIÓN DE CILINDROS CONTENIENDO LOS PIGMENTOS DENTRO DE LAS CAJAS PETRI	79
FIGURA 7 RESULTADOS DEL CRECIMIENTO DEL HONGO ALREDEDOR DE LOS CILINDROS METÁLICOS CONTENIENDO LOS PIGMENTOS	85

## INDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
TABLA 1 COMPOSICION QUIMICA DEL MAIZ	23
TABLA 2 PRINCIPALES ESTADOS PRODUCTORES DE MAIZ EN MEXICO	32
TABLA 3 DIFERENCIAS ENTRE <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Aspergillus parasiticus</i>	40
TABLA 4 FACTORES PARA EL DESARROLLO DE LAS AFLATOXINAS	42
TABLA 5 CONDICIONES PARA LA PREVENCION DEL DESARROLLO Y PRODUCCION DE AFLATOXINAS	43
TABLA 6 CONTENIDO DE HUMEDAD	83
TABLA 7 MEDICIONES FISICAS DEL GRANO	84
TABLA 8 DATOS ESTADISTICOS DE LAS CUATRO VARIEDADES DE MAIZ	86

## GRAFICAS

	<b>Pág.</b>
GRAFICA No. 1 PRODUCCION DE AFLATOXINAS MUESTREO 1	87
GRAFICA No. 2 PRODUCCION DE AFLATOXINAS MUESTREO 2	89
GRAFICA No. 3 PRODUCCION DE AFLATOXINAS MUESTREO 3	89

## INTRODUCCIÓN

La contaminación de alimentos, piensos y productos agrícolas por micotoxinas continúa afectando seriamente la disponibilidad y la inocuidad de los alimentos a nivel mundial.

En la literatura se hace referencia sobre conferencias llevadas a cabo por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), en las cuales discuten temas relativos a la contaminación por micotoxinas, su prevención y control, en granos principalmente el MAÍZ. **(Paliwal, 2001)**

La palabra maíz de origen indio-caribeño significa literalmente “lo que sustenta la vida“. El maíz (*Zea mays*) pertenece a la familia de las gramíneas, es una planta herbácea, pertenece a la tribu Maydeae, la cual incluye 8 géneros, 5 de los cuales son géneros de poca importancia y los 3 géneros americanos son: *Zea*, *Tripsacum* y *Euchlaena*. **(Juarez, 1997)**

El maíz que es junto con el trigo y el arroz, es uno de los cereales más importantes del mundo, suministra elementos nutritivos a los seres humanos, además de ser una materia prima en la industria de la transformación, con la que se producen entre otros productos, almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas y edulcorantes alimenticios. **(FAO, 1993)**

El cultivo de Maíz tiene importancia especial, dado que este cereal constituye la base de la alimentación de los latinoamericanos. El maíz es un cereal que se adapta

ampliamente a diversas condiciones ecológicas y edáficas (del suelo), por eso se cultiva en casi todo el mundo. **(MNCP-SEP, 1987)**

En México y otras localidades en Mesoamérica, el Maíz se cultiva desde hace 5,000 años. A lo largo de este tiempo, el maíz se ha dispersado por todo el mundo pudiéndose adaptar, como ya se menciona, en diversos ambientes, desde el nivel del mar hasta alturas sobre el nivel del mar de 3,500 metros. En los últimos 50 años se han modificado significativamente las prácticas de cultivos utilizados en el maíz, sobre todo el uso de alta tecnología para incrementar los rendimientos por área; entre otras, la mecanización, el uso de variedades mejoradas y el uso intensivo de agroquímicos. **(Gutiérrez, 1999)**

En el Maíz crecen hongos microscópicos principalmente del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, que a su vez producen toxinas, estos hongos se originan tanto en el campo, como en el período de almacenamiento de los granos.

Los hongos en determinados momentos de su ciclo vegetativo, segregan metabolitos fuertemente tóxicos llamados Micotoxinas, entre los que se han hecho desgraciadamente famosas las Aflatoxinas por su marcado poder cancerígeno, además de producir en los alimentos enmohecimiento, descomposición, cambios en su composición y riqueza química, alteraciones en el aspecto, sabor-olor, mermas de producto y en consecuencia grandes pérdidas económicas **(Frazier, 2000)**.

Al síndrome resultante de la ingestión de toxinas contenidas en un alimento se le denomina micotoxicosis, el primer caso documentado atribuido a un alimento que contenía hongos fue el de el cornezuelo del centeno provocada por la especie fúngica *Claviceps purpurea*, parasita del centeno y otros cereales.

En el año de 1960 murieron en Inglaterra 100 000 pavos. A este brote le siguió otro en el que se registro la muerte de 14 000 crías de pavos y nueve brotes de enfermedad

en terneros. El factor común de todos estos episodios fue el empleo de harina de cacahuates brasileños como parte integrante del pienso que se administraba a los animales. De la harina de cacahuate se aisló *Aspergillus flavus*, y posteriormente fue aislado e identificado un metabolito o toxina. A la toxina producida por *A. flavus* se le denomina aflatoxina (**Frazier, 2000**).

A las distintas Aflatoxinas identificadas se les ha designado una letra y un número referidos a alguna propiedad biológica o molecular del compuesto. Por ejemplo los metabolitos más importantes son dos compuestos que emiten fluorescencia azul cuando se exponen a la luz ultravioleta (denominados Aflatoxinas "B1 y B2") y dos que emiten fluorescencia verde (denominados Aflatoxinas "G1 y G2") (**Howard, 1986**).

Las Aflatoxinas tienen numerosos efectos similares a los antibióticos, actuando sobre diversos procesos bioquímicos en los microorganismos, animales y plantas.

La presencia de Aflatoxinas en los alimentos los hace inadecuados para el consumo humano y animal. Muestras de carne, leche y huevos provenientes de animales alimentados con raciones contaminadas con aflatoxinas, han presentado residuos de estas. La cantidad de aflatoxinas presente en estos productos se encuentra condicionada a factores de temperatura y humedad, entre otros, condiciones estrechamente vinculadas al crecimiento de hongos (**Izquierdo, 1995**).

Por eso se considera de enorme importancia proporcionar información sobre este grave problema a todas aquellas personas que son responsables a nivel producción, distribución, comercialización, cosecha, almacenamiento y que intervienen en el manejo de este grano (Maíz) tan sensible al ataque de aflatoxinas.

Para esta investigación se llevará a cabo la cuantificación de aflatoxinas por la técnica de columnas de inmovilización, utilizando 4 variedades de maíces de colores

(Amarillo, Azul, Blanco, Rojo); posteriormente se observará la influencia del color sobre la producción de aflatoxinas.

## JUSTIFICACION

El Maíz es uno de los cereales más importantes para el consumo humano, especialmente en América Latina y en África. Es evidente que la demanda de este maíz continuará aumentando en el futuro. La FAO estima que serán necesarias 60 millones de toneladas adicionales en el año 2030. Por otro lado, dado que se espera que el nivel de vida continúe aumentando, sobre todo en muchos países asiáticos, la demanda de maíz como alimento animal también presentará una alta tasa de crecimiento. En este aspecto, la FAO estima que la demanda de maíz para la alimentación animal aumentará de los 165 millones de toneladas actuales a casi 400 millones en el 2030, o sea un aumento de 235 millones de toneladas (240%).

Debido a la importancia que representa el maíz en nuestro país es interesante conocer como puede ser afectado por algunos factores que perjudican gravemente su cultivo, cosecha y almacenamiento, además de ser uno de los cereales más utilizados por el hombre desde épocas remotas y una de las especies vegetales más productivas, tanto en su producción global –cerca de 600 millones de toneladas por año- más de 4 ton/ha. **(Paliwal, 2001)**

Existen otros estudios sobre la resistencia del maíz al crecimiento e invasión por hongos que está determinado por varios factores como por ejemplo el vigor, sin embargo no hay un estudio que relacione la invasión fúngica y la producción de micotoxinas (aflatoxinas específicamente) con los pigmentos propios del maíz (carotenos, antocianinas).

Debido a que diversos autores e instituciones de salud en todo el mundo indican que existe un alta incidencia de cereales contaminados con micotoxinas y que el maíz en México es el grano con mayor demanda alimenticia, se busca contribuir, con este

estudio se determinará la capacidad de resistencia del grano en base a sus características físicas, en este caso, el color que presentan las variedades de maíz.

La falta de rentabilidad en la producción de granos básicos, situación que motiva a los productores mexicanos o reorientar la producción, abandonar su actividad original o buscar una salida con la exportación.

Entre los principales productos de importación destacan dos granos básicos en la alimentación de la población nacional: maíz y frijol, en conjunto participan el 27,2% de la importancia total realizada en el 2002.

México es el tercer mercado más grande de maíz para Estados Unidos.

El maíz es el principal cultivo en México de acuerdo a la superficie sembrada, volumen de producción y número de productos.

EE.UU. mantiene su tradicional posición predominante en maíz y sorgo, donde cubre prácticamente 100% de las importaciones mexicanas.



# MAIZ

## 1. ANTECEDENTES

La palabra Maíz de origen indio-caribeño que significa literalmente “**lo que sustenta la vida**” (FAO, 1993).

El maíz pertenece a la familia de las gramíneas, su nombre científico es *Zea mays*. El grano de Maíz es la principal fuente de la alimentación humana en América. El maíz es hoy por hoy el cereal más importante y significativo después del trigo en los intercambios mundiales, aunque lamentablemente, en su mayor proporción como alimento destinado al ganado o materia prima para la obtención del almidón (Gutiérrez, 1990).

### 1.1 ORIGEN DEL MAIZ

El maíz difiere en tal manera de sus antepasados que durante mucho tiempo no han podido ser identificados con certeza (Gutiérrez, 1990).

El cultivo de maíz tuvo su origen en América Central, en México. La evidencia más antigua de la existencia del maíz, de unos 7 000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el Valle de Tehuacán, México, así como granos de polen de *Zea*, *Tripsacum* y *Euchlaena* fueron encontrados bajo la ciudad de México, pero es posible que hubiese otro centro secundario de origen en América. Este cereal era un artículo esencial en las civilizaciones maya y azteca, tuvo un importante papel en sus creencias religiosas, festividades y nutrición ambos pueblos incluso afirmaban que la carne y la sangre estaban formadas por maíz. La supervivencia del maíz más

antiguo y su difusión se debió a los seres humanos, quienes recogieron las semillas para posteriormente plantarlas. A fines del siglo XV, tras el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa a través de España **(FAO, 1993)**.

Se difundió entonces por los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente a Europa septentrional. Pese a la gran diversidad de sus formas al parecer todos los tipos principales de maíz conocidos hoy en día, clasificados como *Zea mays*, eran cultivados ya por las poblaciones autóctonas cuando se descubrió el continente americano. Por otro lado, los indicios recogidos mediante estudios de botánica, genética y citología apuntan a un antecesor común de todos los tipos existentes de maíz. La mayoría de los investigadores creen que este cereal se desarrolló a partir del Teosinte, *Euchlaena mexicana* Schrod, cultivo anual que posiblemente sea el más cercano al maíz.

Otros creen, en cambio, que se originó a partir de un maíz silvestre, hoy en día desaparecido. La teoría de la proximidad entre el Teosinte y el maíz se basa en que ambos tienen 10 cromosomas y son homólogos o parcialmente homólogos **(FAO, 1993)**.

El maíz es entonces la forma domesticada de la gramínea silvestre mexicana, el Teosinte, este tiene espigas estrechas con dos hileras de semillas, cada una de ellas protegida por una cubierta muy endurecida. El Teosinte crece en diversos estados de la República Mexicana, desde el norte de Chihuahua hasta Honduras. Se puede encontrar como hierba en los campos de Maíz, en los márgenes de los cultivos y también como planta silvestre en los bosques con sequía invernal. Es capaz de formar híbridos fértiles con el maíz donde quiera que se encuentren juntos.

La espiga actual del Maíz es homóloga con respecto a la porción terminal de una espiga lateral del Teosinte, una estructura en principio totalmente estaminada (sólo

con flores masculinas) que se convirtió más tarde en pistilada (con flores femeninas) por efecto de una mutación con efectos drásticos (**Gutiérrez, 1999**).

## 1.2 CLASIFICACION DEL MAIZ

La clasificación del Maíz puede ser: Botánica, Taxonómica, Comercial y por su calidad.

### BOTÁNICA

El Maíz presenta el siguiente perfil:

Reino: Vegetal

División: *Tracheophyta* (plantas con tejidos vasculares)

Subdivisión: *Pteropsidae* (con hojas grandes)

Clase: *Angiospermae* (plantas con flor, semillas dentro de frutos)

Subclase: *Monocotiledoneae* (con un solo cotiledón)

Grupo: *Glumiflora*

Orden: *Graminales* (generalmente hierbas)

Familia: *Gramínea* (hojas con dos filas alrededor o talles aplanados)

Tribu: *Maydeae*

Especie: *Mays* (maíz cultivado o domesticado) (**Juárez, 1997**)

## TAXONOMICA Y ESTRUCTURAL

El Maíz es una planta herbácea que pertenece a la extensa familia Gramínea. Pertenece a la tribu Maydeae, la cual incluye 8 géneros, 5 de los cuales son géneros de relativamente poca importancia (**Juárez, 1997**).

1. *coix*
2. *schlerachne*
3. *polytoca*
4. *chinonachne*
5. *trilobachne*

Los 3 géneros americanos son:

- I. ***Zea***, género de suma importancia representado por la especie única *Zea mays*, que es el maíz indio. Los grupos agrícolas son el dentado, el reventador, el harinoso, el dulce y el ceroso. Cada grupo puede mejorarse por fitomejoramiento.
- II. ***Tripsacum***, género que posee cierto valor como cultivo forrajero, pero ninguno como cultivo de grano.
- III. ***Euchlaena*** (teosintle), parece ser el pariente silvestre más cercano del Maíz, y ha adquirido gran importancia en el conocimiento actual del origen y evolución del Maíz bajo domesticación (**Juárez, 1997**).

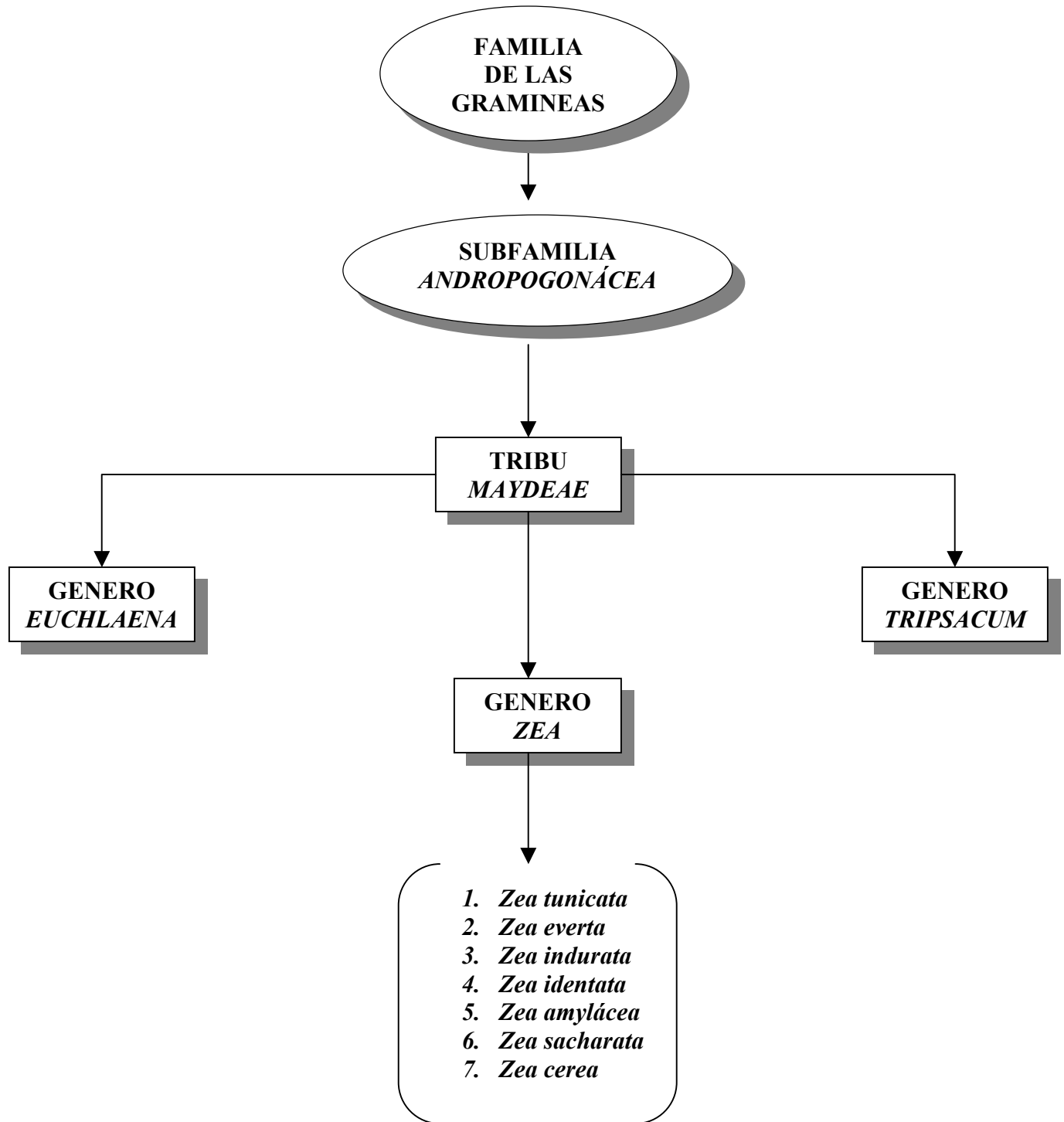


Fig. No. 1 CLASIFICACION TAXONOMICA DEL MAIZ

FUENTE: Juárez, 1997.

## Principales especies que se conocen actualmente son:

- **Maíz dentado (*Zea mays indentata*):** tiene una cantidad variable de endospermo corneo (duro) y harinoso (suave). La parte cornea está a los lados y detrás del grano, mientras que la porción harinosa se localiza en la zona central y en la corona del grano. Se caracteriza por una depresión o diente en la corona del grano, que se origina por la contracción del endospermo harinoso, a medida que el grano va secándose. Se usa principalmente como alimento animal, materia prima industrial y para la alimentación humana, los granos presentan forma aplanada y se estima que el 95% de la producción de Estados Unidos de América es con variedades de este tipo (Juárez, 1997).



- **Maíz semidentado (*Zea amyloacea*):** generalmente el grano presenta una corona redondeada y el endospermo es en su mayoría harinoso. Incluye variedades que se utilizan en la alimentación humana por su mayor contenido de lisina y triptofano, aunque se utiliza también para mejoramiento genético del maíz (Juárez, 1997).

-

- **Maíz cristalino (*Zea mays indurata*):** es conocido como maíz flint, contiene una gruesa capa de endospermo cristalino, que cubre un pequeño centro harinoso. Generalmente el grano es liso y redondo, de consistencia dura pues contiene poco almidón suave. En Estados Unidos se produce poco. Se siembra ampliamente en Argentina, en otras áreas de Latinoamérica y al sur de Europa, donde se usa como alimento animal y humano. Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, este tipo de maíz es de cualquier clase (blanco, amarillo o mezclado), y consiste en un 95% o más de maíz cristalino (**Juárez, 1997**).
- **Maíz dulce (*Zea mays sacharata*):** está caracterizado por una apariencia translúcida y córnea cuando está inmaduro y por una condición vítrea cuando está seco. Se siembra principalmente en Estados Unidos. Las mazorcas se recogen verdes y se usan para enlatado y para consumo en fresco. El maíz dulce difiere del duro solamente por un gen recesivo (su), el cual impide la conversión de una parte del azúcar en almidón (**Juárez, 1997**).



- **Maíz palomero (*Zea mays everta*):** es una de las razas más primitivas y es una forma extrema de maíz cristalino muy duro, que solamente tiene una pequeña porción de endospermo harinoso. Sus granos son redondos (como perlas), o puntiagudas (como el arroz). Aproximadamente el 0.1% de la superficie maicera total de Estados Unidos se siembra con este cultivar, que se emplea principalmente para el consumo humano en la forma de rosetas (palomitas), dada su característica de expansión al someterse al calor. La

capacidad de reventar parece estar condicionada por la proporción relativa de endospermo córneo, en el que los gránulos de almidón están incrustados en un material coloidal tenaz y elástico que resiste la presión de vapor generada dentro del grano al calentarse, hasta que alcanza una fuerza explosiva, que lo hace aumentar su volumen original unas 30 veces(Juárez, 1997).



- **Maíz tunicado (*Zea mays tunicata*):** es un tipo raro de maíz, cada grano está encerrado en una túnica o vaina, no presenta importancia económica, pero si tiene valor como material genético y citogenético para el mejoramiento del maíz, es de considerable interés en estudios sobre el origen del maíz (Juárez, 1997).
- **Maíz cereo (*Zea cerea*):** debe su nombre a la apariencia un tanto cerosa de sus granos. El almidón ceroso está totalmente compuesto por la forma molecular ramificada de amilopectina (Juárez, 1997).



## COMERCIAL

Desde el punto de vista de compraventa, este cereal se clasifica de la siguiente manera:

### Maíz Blanco

Maíz con un mínimo de 88% de granos blancos, incluyendo granos cremosos, pajizos, grisáceos o rosados y con un mínimo de 12% de granos de otros colores, dentro del cual no debe haber más de 3% de granos rojos, azules o morados; en este último porcentaje no debe haber más de 2% de granos morados **(NMX-FF-034-1995-SCFI)**.

La norma venezolana COVENIN (comité venezolano de normas internacionales) lo tipifica como todo aquel maíz de granos blancos o blancos-amarillentos, que presenta un valor menor o igual a 3% de otros colores. El departamento de Agricultura de Estados Unidos indica que es aquel maíz formado por granos blancos, que puede contener hasta 2% como máximo de otros colores. Los granos blancos ligeramente teñidos de color paja o rosa, se consideran como blancos con la condición de que el color rosa cubra menos de 50% de la superficie del grano; si la cobertura del color rosa es igual o mayor a 50%, serán consideradas como granos de otros colores. Las industrias harineras y almidoneras prefieren este maíz debido al color blanco que imparte al producto terminado. En Estados Unidos es usado para hacer hojuelas de maíz y harinas gruesas; usualmente tiene un precio mayor que el maíz amarillo. Las prácticas culturales para su producción son similares a las del maíz amarillo, el único inconveniente es el efecto del grano de polen proveniente del maíz amarillo, ya que producirá un grano ligeramente amarillo **(COVENIN ,2004)**.

A este maíz la industria lo destina para productos como harinas, tortillas, botanas y pan **(Othon, 2001)**

## **Maíz Amarillo**

Maíz que contiene un mínimo de 95% de granos amarillos y un máximo de 5% de granos de otros colores; en este último porcentaje no debe haber más de 4% de granos morados **(NMX-FF-034-1995-SCFI)**.

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos menciona que es aquel maíz compuesto por granos de color amarillo, puede contener como máximo 5% de maíces de otros colores. Los granos ligeramente teñidos de rojo se considerarán como amarillo siempre y cuando el color rojo oscuro cubra menos del 50%, si no se consideran como maíces de otros colores. Este maíz es procesado en la industria almidonera, ya que el gluten forrajero es muy codiciado por los ganaderos, debido a su contenido de carótenos (precursores de vitamina A).

También se utiliza en la fabricación de frituras de maíz, dada la coloración final del producto **(COVENIN, 2004)**.

Los maíces de este color son canalizados hacia la alimentación animal y preferidos por la industria del almidón **(Othon, 2001)**.

## **Maíz Mezclado**

La norma oficial mexicana estipula dos tipos diferentes de mezclado: Mezclado 1. Lo define como todo aquel maíz blanco que contenga entre el 5,1 y el 10% de maíces amarillos, así como el maíz amarillo que presenta un valor entre el 5,1 y el 10% de maíces blancos. Ambos sin sobrepasar el 5% de maíces oscuros.

Mezclado 2: son aquellos maíces blancos que presentan más del 10% de maíces amarillos, así como los maíces amarillos que contengan más del 10% de granos blancos. Ambos sin sobrepasar el 5% de maíces oscuros.

La norma venezolana COVENIN indica que todo el maíz blanco y amarillo que presente un valor mayor del 3% y el 6% respectivamente, de otros colores será tipificado como maíz mezclado. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos menciona que todo el maíz blanco amarillo que presenten valores que sobrepasen el 2% y el 5% respectivamente de granos de otros colores, será clasificado como mezclado (**COVENIN, 2004**). Estos maíces son utilizados para la fabricación de botanas y platillo típicos (**Othon, 2001**).

### **Maíz Pinto**

La norma oficial mexicana lo define como todo aquel maíz blanco, amarillo y mezclado que contenga más del 5% de maíces oscuros (rojo, azul y morado). La norma venezolana COVENIN y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos no tipifican este tipo de maíz; probablemente se debe a que en estos países la variabilidad en colores no es tan amplia como en México.

Este maíz no es muy aceptado por la industria harinera, ya que le imparte una coloración no deseada al producto final. Para la determinación de color en México y Venezuela se utiliza una submuestra de 100 g de la muestra original, después de haber separado las impurezas. El Departamento de Agricultura de Estados Unidos establece que esta determinación debe ser hecha de una submuestra de 250 g obtenida de la muestra original, después de quitar el grano quebrado y las impurezas (**COVENIN, 2004**).



## CALIDAD

El maíz se clasifica según la Norma Oficial Mexicana en cuatro grados de calidad:

- ✓ México 1
- ✓ México 2
- ✓ México 3
- ✓ México 4

## GENERALIDADES DEL MAIZ

### CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

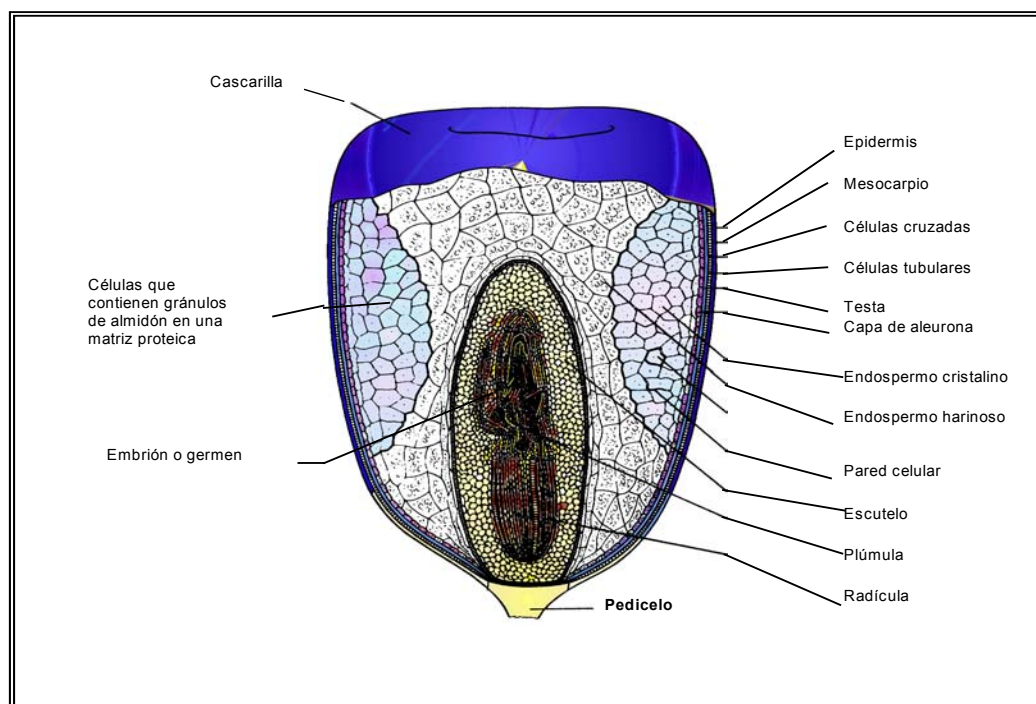
Al grano de maíz se le denomina botánicamente como cariósido, un fruto seco indehisciente (significa que no abre por sí sólo) de una semilla simple. Este tipo de fruto en el cual la pared ovárica madura conocida como pericarpio no se separa naturalmente de la semilla, es característica de todos los cereales. El grano se encuentra unido a toda la mazorca, el pedúnculo se rompe al azar dejando un final dentado. La estructura cónica, que permanece unida al grano se llama tip, cap o punta (**Stanley, 1987**).

Las diferencias en tamaño y forma de los granos de maíz son debidas a diferencias de origen genético y a su colocación dentro de la mazorca. Un peso promedio de grano de maíz dentado es de 250-300 mg (Ramstad, 1987).

## ESTRUCTURA DEL GRANO

El grano de maíz es la semilla reproductora de la planta del maíz, de tal forma que su estructura y composición existen para propósitos de reproducción más que de proceso. El grano está compuesto de cuatro partes principales: germen, endospermo, pericarpio y punta, cada una de ellas presenta diferentes características de composición de importancia en la utilización del grano de maíz, las cuales serán descritas a continuación (E. FOOD SCIENCE, FOOD TECH. AND NUTRITION, 1993)

Fig.No 2 LA ESTRUCTURA DEL MAIZ



FUENTE: FAO, 1993

**GERMEN:** desde el punto de vista reproductivo, es el foco primario del grano de maíz, ya que contiene todas las enzimas esenciales, nutrientes y material genético para producir una planta de maíz. El germen está compuesto por el embrión y el escutelo, éste funciona como un órgano nutritivo para el embrión. El germen representa del 10-12 % del peso seco del grano, almacena nutrientes y hormonas las cuales son movilizadas por enzimas elaboradas durante las etapas iniciales de la germinación. El escutelo es una sencilla capa de células secretoras las cuáles forman el contacto primario entre el germen y el endospermo.

- Del germen se obtiene también el conocido aceite de maíz
- Si éste se somete a una molienda seca se obtienen productos como: cereales para desayuno, botanas y panadería.
- Si se somete a una molienda húmeda se tienen productos como: Almidones modificados, mieles y botanas (**Othon y Saldivar, 2001**).

**ENDOSPERMO:** representa la mayor porción del grano, constituye del 82 al 84% del peso seco del grano y está compuesto principalmente por almidón (86-89%). Está comprendido por células alargadas empacadas con gránulos de almidón de 5-30  $\mu\text{m}$  empotrados en una matriz proteica continua. El endospermo harinoso rodea la fisura central del grano y es opaco para transmitir la luz. La opacidad es debida a la refracción de la luz sobre bolsas de aire alrededor de los gránulos de almidón las cuáles resultan del desgarramiento de la delgada matriz proteica cuando se encoge ésta durante el secado.

La matriz no se alarga completamente alrededor de los gránulos de almidón y éstos asumen una forma redondeada. El endospermo córneo se encuentra principalmente a los lados del grano, la matriz proteica que lo cubre es más gruesa y permanece

intacta durante el secado, los gránulos de almidón se encuentran comprimidos en forma poliédrica, son de aspecto translúcido y no presentan cavidades aéreas. **(Watson, 1987)**. La matriz proteica del endospermo está comprendida por glutelina y zeína, la glutelina debido a sus fuertes enlaces disulfuro proporciona al endospermo características estructurales, no ocurre así con la zeína la cuál existe como formas esféricas empotradas dentro de la matriz proteica. **(E. FOOD SCIENCE.FOOD TECH AND NUTRITION.1993)**. La proporción de endospermo córneo, harinoso depende del tipo y variedad del maíz. En el maíz dentado, la relación de endospermo córneo / harinoso es en promedio 2:1 **(Wolf col. 1952)**. La capa externa del endospermo, llamada Aleurona, es una capa sencilla de células de apariencia totalmente diferente. Esta cubre totalmente el endospermo almidonoso y el germen, y es interrumpida sólo a la altura de la punta del grano. Es más delgada cerca del germen. El contenido de las células de aleurona es granular en apariencia conteniendo gránulos de proteína pero no de almidón, éstas células son ricas en minerales y proteína de alta calidad pero nutrimentalmente no disponibles para las enzimas digestivas a menos que las células sean desintegradas durante la molienda. En el maíz flint, la capa aleurona representa el 2,2, % del grano en base seca y contiene 19,2% de proteína **(Watson, 1987)**.

**PERICARPIO:** es la estructura más externa de la semilla, es una membrana delgada, transparente, casi invisible, llamada cubierta de la semilla. Se adhiere firmemente a la superficie externa de la capa aleurona y además imparte propiedades semipermeables al grano de maíz, esto se demuestra porque granos de maíz completamente hidratados muestran efectos de presión osmótica sobre la transferencia entre agua pura y soluciones salinas **(Ramstad, 1987)**. El pericarpio representa el 5-6% del peso seco del grano. Todas las partes del pericarpio están

compuestas de células muertas que son tubos celulósicos. La capa más externa de tubos celulares es una hilera de tubos longitudinales presionados fuertemente a la capa aleurona. Cerca está un área muy abierta y poco compacta llamada capa de células cruzadas, la cuál tiene una gran distribución de espacio intercelular, ésta se encuentra cubierta por una capa delgada y bastante compacta conocida como mesocarpio formada por células alargadas empacadas y con numerosos hoyos, éstos hoyos y las áreas abiertas en el cruce de la capa celular proveen interconexiones capilares entre todas las células lo cual facilita la absorción de agua. La capa más externa de células llamada epidermis, está formada por una cubierta cerosa que probablemente retarda el intercambio de humedad el espesor de la capa de pericarpio varia desde 62  $\mu\text{m}$  a 160  $\mu\text{m}$  y demostraron que el cultivo de granos de ambos espesores delgado o grueso puede ser exitosa. El pericarpio se extiende desde la base del grano hasta la punta **(FAO, 1993)**.

**PUNTA:** la punta del grano es el lugar de unión de éste con la mazorca y el pasillo donde se realiza el movimiento de nutrientes para el desarrollo del grano. Constituye aproximadamente el 1% del peso seco del grano. Dentro de la punta hay células esponjosas en forma de estrellas conectadas sólo por los finales de las ramas formando así una estructura abierta que es continua con la capa de células cruzadas. Quitando la punta se expone una capa circular café oscura conocida como capa negra que se encuentra contra la base del germen y del endospermo, esta capa parece ser una capa de separación con una probable función de sellado de la punta al grano, y sirve como una barrera que protege al grano contra la invasión de insectos y microorganismos **(E. FOOD SCIENCE.FOOD TECH AND NUTRITION.1993)**. La aparición de la capa negra coincide aproximadamente con la maduración del grano y la suspensión de la acumulación de la sustancia seca **(Watson y Ramstad, 1987)**.



**TABLA No.1 COMPOSICIÓN QUIMICA DEL MAIZ**  
**COMPOSICIÓN QUÍMICA GENERAL DEL MAIZ**

<b>PARTE ANATOMICA / ESTRUCTURAL</b>	<b>ALMIDON %</b>	<b>GRASA %</b>	<b>PROTEINAS %</b>	<b>CENIZAS %</b>	<b>AZUCARES %</b>
ENDOSPERMO	87,6	0,80	8,0	0,3	0,62
GERMEN	8,3	33,2	18,4	10,5	10,8
PERICARPIO	7,3	1,0	3,7	0,8	0,34
PUNTA	5,3	3,8	9,1	1,6	1,6
GRANO ENTERO	73,4	4,4	9,1	1,4	1,9

**FUENTE: WATSON,SA, RAMSTAD, PE,1987.**

En este cuadro se muestra el porcentaje de cada componente y como se encuentra distribuido dentro del grano a continuación se definen, según la literatura, cada uno de los componentes enunciados.

## ALMIDON

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, (que es la forma en que los cereales almacenan energía en el grano) al que corresponde hasta el 72 o 73% del peso del grano. Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3% del grano. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula esencialmente lineal de unidades de glucosa, que constituye hasta el 25-30% de almidón. El polímero amilopectina también consiste en unidades de glucosa, pero en forma ramificada y constituye hasta el 70-75% de almidón.

La composición del almidón viene determinada genéticamente. En el maíz común, el contenido de amilosa y amilopectina del almidón, es como se ha descrito anteriormente, pero el gen que produce maíz ceroso contiene un almidón formado totalmente de amilopectina.

Un mutante del endospermo, denominado diluyente de la amilosa (da), hace aumentar la proporción de amilosa del almidón hasta el 50% y más. Otros genes, solos o combinados, puede modificar la composición del almidón al alterar la proporción entre la amilosa y la amilopectina (**Boyer y Shannon, 1987.**)

## PROTEINAS

Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia, la zeína es la principal proteína y se encuentra en el endospermo. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11 % del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo. La calidad nutritiva del maíz como alimento viene determinada por la composición de aminoácidos de sus proteínas.

Para determinar la suficiencia del contenido de aminoácidos esenciales la FAO / OMS cuentan con un modelo de referencia de aminoácidos esenciales tanto del maíz común como del maíz MPC (maíz de primera calidad).

En el maíz común, son patentes las carencias de lisina y triptófano, en relación con el MPC. Otro rasgo importante es el elevado contenido de leucina del maíz común y el bajo contenido de este aminoácido en el MPC (**FAO, 1993**).

## ACIDOS GRASOS

El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y viene determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18 %. El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados; ácidos palmíticos y esteáricos, con valores medios del 11% y el 2%, respectivamente (**Paliwal, 2001**).

En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de cerca del 24%. Solo se han encontrado cantidades reducidísimas de ácidos linolénico y araquidónico. Además, el aceite de maíz es relativamente estable, por contener

únicamente pequeñas cantidades de ácido linolénico (0,7%) y niveles elevados de antioxidantes naturales.

El aceite de maíz goza de gran reputación a causa de la distribución de sus ácidos grasos, fundamentalmente el ácido oleico y linoleico. A ese respecto, quienes consumen maíz desgerminado obtienen menos aceite y ácidos grasos que quienes consumen el grano entero.

## **FIBRA DIETÉTICA Y OTROS HIDRATOS DE CARBONO**

Después del almidón, las proteínas y las grasas, la fibra dietética es el componente químico del maíz que se halla en cantidades mayores. Los hidratos de carbono complejos del grano de maíz se encuentran en el pericarpio y la piloriza, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen.

El grano maduro contiene pequeñas cantidades de otros hidratos de carbono, además de almidón. El total de azúcares del grano varía entre el 1 y el 3 %, y la sucrosa, el elemento más importante, se halla esencialmente en el germen.

En los granos en vías de maduración hay niveles más elevados de monosacáridos, disacáridos y trisacáridos. Doce días después de la polinización, el contenido de azúcar es relativamente elevado, mientras que el de almidón es bajo.

Conforme madura el grano, disminuyen los azúcares y aumenta el almidón. Así, por ejemplo, se ha determinado que, en granos de 16 días de vida, los azúcares

alcanzan un nivel del 9,4 % del peso seco del grano, pero que su nivel disminuye considerablemente con el paso del tiempo.

La concentración de sucrosa a los 15 – 18 días de la polinización asciende a una cantidad situada entre el 4 y 8% del peso seco del grano. A estos niveles relativamente elevados de azúcar y sucrosa reductores se debe posiblemente el hecho de que el maíz común verde y, en mayor medida aún, el maíz dulce sean tan apreciados por la gente (**FAO, 1993**).

## **MINERALES**

La concentración de cenizas en el grano de maíz es aproximadamente del 1,3%, sólo ligeramente menor que el contenido de fibra cruda. Los factores ambientales influyen probablemente en dicho contenido.

El germen es relativamente rico en minerales, con un valor medio del 11%, frente a menos del 1% en el endospermo. El germen proporciona cerca del 78% de todos los minerales del grano.

El mineral que más abunda es el fósforo, en forma de fitato de potasio y magnesio, encontrándose en su totalidad en el embrión con valores de aproximadamente 0,90% en el maíz común y cerca del 0,92% en el maíz opaco. Como sucede en la mayoría de los granos de cereal, el maíz tiene un bajo contenido de Ca y de oligoelementos (**Paliwal, 2001**).

## VITAMINAS LIPOSOLUBLES

El grano de maíz contiene dos vitaminas solubles en grasa, la provitamina "A" o carotenoide, y la vitamina E. Los carotenoides se hallan sobre todo en el maíz amarillo, en cantidades que pueden ser reguladas genéticamente, en tanto que el maíz blanco tiene un escaso o nulo contenido de ellos.

La mayoría de los carotenoides se encuentran en el endospermo duro del grano y únicamente pequeñas cantidades en el germen. El beta-caroteno es una fuente importante de vitamina A, aunque no totalmente aprovechada pues los seres humanos no consumen tanto maíz amarillo como maíz blanco.

**Squibb, Bressani y Scrimshaw (1957)** determinaron que el beta-caroteno equivalía aproximadamente al 22% el total de carotenoides (6,4-11,3  $\mu\text{g/g}$ ) de tres muestras de maíz amarillo.

Los carotenoides de maíz amarillo pueden destruirse durante el almacenamiento; **Watson (1962)** encontró en el maíz recién cosechado valores de 4,8% mg/ Kg, que al cabo de 36 meses de almacenamiento habían disminuido a 1,9 mg/Kg. Lo mismo sucedió con las xantofilas, según estudios recientes, si se mejora la calidad proteínica del maíz aumenta la transformación de beta-caroteno en vitamina A

La otra vitamina liposoluble, la vitamina E, que es objeto de cierta regulación genética, se halla principalmente en el germen. La fuente de la vitamina E son cuatro tocoferoles; el más activo biológicamente es el tocoferol-alfa, aunque el tocoferol-gamma es probablemente más activo como antioxidante (**FAO, 1993**).

## VITAMINAS HIDROSOLUBLES

Las vitaminas solubles en agua se encuentran sobre todo en la capa de aleurona del grano de maíz, y en menor medida en el germen y en el endospermo. Esta distribución tiene importancia al elaborar el cereal pues, como se expondrá más adelante, la elaboración da lugar a pérdidas considerables de vitaminas.

Se han encontrado, cantidades variables de tiamina y riboflavina en el grano de maíz; su contenido está determinado en mayor medida por el medio ambiente y las prácticas de cultivo que por la estructura genética, aunque se han encontrado diferencias en el contenido de estas vitaminas entre las distintas variedades.

La vitamina soluble en agua a la cual se han dedicado más investigaciones es el ácido nicotínico, a causa de su asociación con la deficiencia de niacina, o pelagra fenómeno muy difundido en las poblaciones que consumen grandes cantidades de maíz. Al igual que sucede con otras vitaminas, el contenido de niacina es distinto según las variedades, con valores medios de aproximadamente 20 µg/g.

El maíz no tiene vitamina B<sub>12</sub> y el grano maduro contiene sólo pequeñas cantidades –en caso de que las haya- de ácido ascórbico.

## VALOR NUTRITIVO E IMPORTANCIA DEL MAIZ

La importancia de los cereales en la nutrición de millones de personas de todo el mundo es ampliamente reconocida. Debido a su ingesta relativamente elevada en los países en desarrollo, no se les puede considerar sólo una fuente de energía, sino que además suministran cantidades notables de proteínas.

Los granos de cereal tienen una baja concentración de proteínas y la calidad de éstas se halla limitada por la deficiencia de algunos aminoácidos esenciales, sobre todo lisina. Un hecho mucho menos conocido es que algunos cereales contienen un exceso de ciertos aminoácidos esenciales que influye en la eficiencia de la asimilación de las proteínas. Ejemplo clásico de ello es el maíz, pues otros cereales presentan limitaciones iguales, pero menos evidentes.

Numerosos investigadores han analizado las causas de la baja calidad de las proteínas del maíz, y entre los primeros estudios estuvieron los de **Mitchell y Smuts (1932)**, quienes consiguieron mejoras notorias en el crecimiento humano al complementar dietas de proteínas de maíz al 8% con un 0,25% de lisina. Estos resultados han sido confirmados a lo largo del tiempo por otros autores p. Ej., **Howe, Janson y Gilfillan (1965)**, en tanto que otros p. Ej., **Bressani, Elías y Braham (1968)** han mostrado que al agregar lisina al maíz sólo mejora levemente la calidad de las proteínas. Esta diferencia de resultados se puede explicar por el distinto contenido de lisina de las variedades de maíz. Los estudios al respecto llevaron al descubrimiento por parte de **Mertz, Bates y Nelson (1964)** del maíz con elevado contenido de lisina denominado opaco-2.

Según algunos investigadores **Hogan y Col. (1955)**, es el triptofano, no la lisina, el principal aminoácido limitante de las proteínas del maíz, lo cual puede ser cierto



en el caso de algunas variedades con una concentración elevada de lisina o para productos de maíz que hayan sido sometidos a algún tipo de elaboración.

Todos los investigadores han coincidido, en cambio, en que la adición simultánea de lisina y triptofano mejora considerablemente la calidad de las proteínas del maíz, como se ha demostrado experimentalmente con animales.

La mejora de calidad obtenida a raíz de la adición de lisina y triptofano ha sido pequeña en algunos estudios y más levada en otros, tras la adición de otros aminoácidos. Al parecer, el aminoácido limitante de las proteínas de más importancia, después de la lisina y del triptofano, es a isoleucina, según se ha determinado en experimentos de alimentación animal. Se ha informado que la elevada ingesta de leucina consumida con las proteínas del maíz aumenta las necesidades de niacina y que este aminoácido podría ser, parcialmente, el causante de la pelagra.

Sea como fuere, la adición de 0,30% de L-lisina y de 0,10% de L-triptofano aumenta fácilmente la calidad de las proteínas del maíz en un 150%. Muchos de los efectos de los aminoácidos limitantes sobre las proteínas del maíz varían según el nivel de proteínas del maíz.

El maíz ha sido y será muy probablemente el producto con mayor consumo en los hogares mexicanos ya que es un alimento representativo de la cultura nacional y del cual derivan un sin fin de alimentos consumidos de manera cotidiana como son: principalmente la tortilla, harinas, frituras, almidones, aceite, féculas entre otras.

Es por tanto uno de los principales cultivos del país en función de la superficie total cosechada y de la producción de los principales cultivos anuales. A continuación

se presenta una tabla donde se encuentran los principales estados de la República Mexicana productores de maíz.

**Tabla No. 2**  
**PRINCIPALES ESTADOS PRODUCTORES DE MAIZ EN MEXICO**

Principales Estados Productores	Participación de la Producción	Rendimiento Promedio (Ton/Ha)
------------------------------------	--------------------------------	-------------------------------------

**CICLO PRIMAVERA-VERANO 2004/2004**

	VOLUMEN (Miles/Ton)	%	
<b>TOTAL NACIONAL</b>	<b>16,050</b>	<b>100.0</b>	
<b>Jalisco</b>	<b>3,243</b>	<b>20,2</b>	<b>5,31</b>
<b>EdoMex.</b>	<b>1,676</b>	<b>10,4</b>	<b>2,91</b>
<b>Guanajuato</b>	<b>1,620</b>	<b>10,1</b>	<b>4,01</b>
<b>Chiapas</b>	<b>1,327</b>	<b>8,3</b>	<b>1,83</b>
<b>Michoacan</b>	<b>1,205</b>	<b>7,5</b>	<b>2,95</b>

**CICLO OTOÑO-INVIERNO 2004/2005**

	VOLUMEN (Miles/Ton)	%	
<b>TOTAL NACIONAL</b>	<b>25,549</b>	<b>100.0</b>	
<b>Sinaloa</b>	<b>6,758</b>	<b>26,4</b>	<b>8,66</b>
<b>Oaxaca</b>	<b>4,722</b>	<b>18,5</b>	<b>2,07</b>

**FUENTE: SAGARPA,2005**

## PIGMENTOS DEL MAIZ

Nuestra valoración en los alimentos se basa en buena medida en su color **(Coúltate, 1998)**. De todos los pigmentos vegetales conocidos, los carotenos y las antocianinas son los compuestos nutrimentalmente y tecnológicamente más importantes, las antocianinas por ser compuestos hidrosolubles y ambos por tener propiedades nutraceuticas.

Están presentes en todas las partes de la planta; sin embargo se concentran más en flores y frutos. Estos compuestos han sido consumidos por el hombre sin ningún efecto perjudicial evidente.

En México se tiene una gran diversidad de maíces con grano pigmentado. Los colores que se observan en el grano son desde amarillo hasta el negro. El color se debe a la presencia de antocianinas, la cuales se acumulan en el pericarpio y capa de aleurona o bien en ambas estructuras **(Salinas y col. 1999)**.

Actualmente se sabe que estos compuestos poseen importantes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, además de brillantes colores y alta solubilidad en agua, lo que hace de estos componentes una importante alternativa para sustituir parte de los colorantes sintéticos que han caído en desuso por su posible efecto dañino sobre la salud humana.

## COLORANTES PRESENTES EN EL MAIZ

### ANTOCIANINAS

Existe una gran diversidad de tipos de maíz (*Zea mays*) en el mundo, y todos ellos presentan una amplia gama de colores que van desde el blanco hasta el azul oscuro, pasando por el amarillo, rojo, morado o púrpura, café y verde. México es considerado como centro de origen del maíz, por lo que la diversidad genética encontrado en esta especie es una de las mayores en el mundo. En nuestro país se han descrito cerca de 35 razas de maíz, dentro de las cuales se encuentran maíces de grano pigmentado, con colores que van desde el negro hasta rosa, siendo los más comunes los azules y rojos (**Salinas y col .1999**).

El color de estos maíces se debe principalmente a la presencia de antocianinas en su estructura, sobre todo en la región correspondiente al pericarpio, en la capa de aleurona o en ambas estructuras. Las antocianinas usadas como colorantes en alimentos han sido aprobadas, por ejemplo, en Japón y enlistadas en la “Lista de Aditivos Existentes para Alimentos”, como el color púrpura del maíz, y están siendo empleados para colorear bebidas, gelatinas, gomas de mascar y geles.

En la actualidad, las antocianinas se han reportado como biomoléculas con importantes actividades biológicas, tales como antioxidantes naturales, antimutagénicos y actividades anticáncerígenas.

En este sentido, las antocianinas han sido clasificadas no solo como colorantes alimentarios, sino también, como materiales alimenticios saludables, por tanto, se torna importante la búsqueda de nuevos materiales (razas de maíz) con altos

niveles de antocianinas en su composición, representando un valor agregado para aquellos maíces con estas características (**Fossen, 2001**).

El grano de maíz puede diferir significativamente en color del blanco a amarillo, anaranjado, rojo, púrpura (azul o negro) y café. Las diferencias del color pueden ser debido a diferencias genéticas en el pericarpio, aleurona, germen y endospermo. El pericarpio puede ser transparente, anaranjado, rojo, rojo fresa, rojo oscuro, café o variado; la capa de aleurona puede ser transparente, rojo púrpura, púrpura o café; el germen puede ser transparente, amarillo, rojo anaranjado o púrpura; el endospermo es igualmente incoloro o amarillo, anaranjado o rojo anaranjado. Obviamente, que el pericarpio y la aleurona deben ser transparentes para que el verdadero color del endospermo pueda ser visto (**Watson, 1987**).

Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua, que son visibles al ojo humano, aunque se pueden encontrar en cualquier parte de la planta, son mucho más evidentes en frutos y flores, en los cuales contribuye a los brillantes colores rojos, azules y morados que con frecuencia se observan en estos tejidos vegetales.

Pertenecen al grupo de los flavonoides y su composición básica es un núcleo de flavón, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una estructura de tres carbonos.

En general, las antocianinas no se acumulan como tal en la planta, sino que se encuentran en su forma glicosilada, esto es, unidas a algún azúcar, y en cuyo caso se denominan antocianidinas. Aunque se han descrito doce diferentes antocianidinas, las más comunes en plantas son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina.

En la planta de maíz, las antocianinas están en diferentes estructuras, que abarcan desde el tallo, vaina, hojas e inflorescencias; en las mazorcas se encuentran desde luego en el grano.

Las antocianinas encontradas en esta gramínea derivan de cianidina y pelargonidina **(Straus, 1959)**.

## **IMPORTANCIA DEL MAIZ**

Su importancia se debe a que el maíz ha estado muy asociado con la cultura y estilo de vida de los nativos de Latinoamérica y, además, de ser uno de los más adaptados en toda América.

El maíz azul y otros maíces de colores, históricamente representan el principal tipo de maíz cultivado para elaborar harinas y con ella productos como atoles, tortillas entre otros. En la actualidad el maíz principalmente el azul está encontrando nuevos mercados exteriores por el hecho de que de ellos se puede obtener productos alimenticios teñidos de forma natural, que en el mundo actual tienen relevancia, por los problemas de salud. Asociados con el consumo indiscriminado de alimentos con colorantes artificiales. Además, los pigmentos presentes en este maíz son de gran interés por el poder antioxidante que poseen, considerándosele como un alimento nutracéutico **(Salinas y col.1999)**.

# MICOTOXINAS

## HISTORIA

Desde hace siglos se sabe que la ingestión de ciertas especies de hongos produce enfermedades y hasta la muerte, pero el conocimiento de que algunos de los mohos que alteran corrientemente los alimentos dan lugar a enfermedades e incluso la muerte, tanto en animales como en el hombre **(Doyle, 2001)**.

Las esporas de los mohos se hallan ampliamente distribuidas por toda la naturaleza y es bien conocida la facilidad con que germinan y crecen en alimentos y piensos, especialmente si están humedecidos. También se sabe, desde hace mucho tiempo, que el enmohecimiento se manifiesta mediante aromas desagradables u otros cambios indeseables. Se conoce, así mismo, otro de los rasgos del deterioro por mohos, pero sólo en las últimas dos décadas se ha apreciado debidamente su importancia; algunos mohos son capaces de elaborar, durante su período de crecimiento, sustancias químicas venenosas ó capaces de originar síntomas tóxicos de diversos tipos, si el hombre o los animales ingieren los alimentos o piensos que los contienen. Estos compuestos químicos se designan genéricamente con el nombre de micotoxinas **(Fennema, 1985)**.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de hongos que pueden producir propiedades tóxicas, carcinógenas, mutacionígeras, teratógenas y estrogénicas. El término MICOTOXINA se deriva de las palabras griegas "MYKES" (hongo) y "TOKSIKON" (veneno). Los síndromes de toxicidad resultantes de la absorción de micotoxinas por el hombre y los animales se denominan "micotoxicosis" **(Salinas, 1999)**.

Los mohos son capaces de producir una amplia variedad de metabolitos secundarios, muchos de los cuales poseen actividad biológica.

La humanidad se ha beneficiado de muchos de estos metabolitos, como es el caso de los antibióticos, pero a través de la historia ha sufrido diversas enfermedades por la acción de diversos productos tóxicos de los hongos que contaminan alimentos.

El descubrimiento, al principio de los años 60, de micotoxinas altamente tóxicas y carcinogénicas conocidas como aflatoxinas, sirvió de impulso para la investigación actual. **(Howard, 1986)**

Aunque se conoce desde 1940 las micotoxinas atrajeron la atención de los científicos del mundo occidental a principios de los 60 durante el brote de la enfermedad X de los pavos en Inglaterra, que acabó con unos 100 000 pavos. La causa de esta enfermedad atribuida es un factor tóxico existente en la harina de cacahuete de Brasil que se utilizaba como fuente de proteínas en los piensos de las aves afectadas **(Doyle, 2001)**

De la harina de cacahuete se aisló *Aspergillus flavus*, y posteriormente fue aislado e identificado un metabolito o toxina.

A la toxina elaborada por *Aspergillus flavus* se le denominó aflatoxina. El caso más importante en el hombre ocurrió en diversos pueblos de la India en el otoño de 1974, en el que se vieron implicadas 400 personas y murieron más de 100. Su origen fue el maíz constituyente principal de la dieta, contaminado con aflatoxinas a niveles de 0,25 a 15,6 mg/kg.

En Tailandia se ha asociado la ingestión de aflatoxinas con la aparición de una encefalopatía y degeneración grasa de las vísceras (EFDV), una enfermedad mortal que se produce en la infancia. El síndrome de Reye, una enfermedad similar a la anterior, que contribuye de una manera importante a la mortalidad infantil en los



E.U.A., se ha sugerido que se debe al menos en parte a la ingestión de aflatoxinas. La enfermedad es de compleja etiología y no se ha establecido una relación definitiva con aflatoxinas. **(Howard, 1986)**

La aflatoxina es un carcinógeno fuerte, se vincula con un buen número de enfermedades en animales y humanos, y recientemente se ha conectado con la enfermedad infantil kwashiorkor, que en la lengua Ga de Ghana significa la enfermedad del primer niño cuando es reemplazado en el seno materno por el segundo.

En 1981, el Hospital Pedagógico de Jartum, Sudán y la Escuela de Medicina de Liverpool, emprendieron una investigación de 3 años para intentar correlacionar la ingestión de micotoxinas y las variaciones estacionales en su nivel, con casos reales de desnutrición infantil.

El estudio consistía en examinar los alimentos comunes de los mercados locales y muestras de los alimentos preparados en las casas de los niños, buscando micotoxinas. Las aflatoxinas han sido detectadas hasta ahora en los cacahuates, los garbanzos, la mantequilla de maní- todos obtenidos en los mercados locales. Los investigadores concluyeron que los niños con kwashiorkor están en mayor riesgo por la aflatoxina que los niños normales. Las aflatoxinas son elaboradas por ciertas cepas de *A. flavus* y *A. parasiticus*, y por otras especies fúngicas. El simple hecho de identificar un hongo como *A. flavus* o como *A. parasiticus* no significa que elabore aflatoxina Tabla 2 **(Frazier y Westhoff, 2000)**.

**TABLA No.3**

**DIFERENCIAS ENTRE *A. flavus* y *A. parasiticus***

<b>ESPECIE</b>	<b>CONIDIOS</b>	<b>TOXINAS</b>
<i>A. flavus</i>	<b>Lisos o ligeramente rugosos, de tamaño variable</b>	<b>Aflatoxinas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, ácido ciclopiazónico</b>
<i>A. parasiticus</i>	<b>Manifiestamente rugosos, varían poco en tamaño</b>	<b>Aflatoxina B y G</b>

FUENTE:DOYLE, 2001

Tanto el número como el tipo de aflatoxina son distintos según la cepa de que se trate. Por ejemplo, las cepas Link de *A. flavus* elaboran aflatoxina de tipo B<sub>1</sub> y sus metabolitos afines, mientras que la cepa Speare de *A. Parasiticus* elabora aflatoxinas de los tipos B<sub>1</sub> y G<sub>1</sub> , y los metabolitos afines a las mismas (**Frazier y Westhoff, 2000**).

Las aflatoxinas se pueden encontrar como contaminantes naturales en una variedad de géneros alimenticios tales como, cereales y productos de cereales, cacahuates, nueces, almendras, avellanas y otros frutos secos, coco, cacao, lentejas, leche y sus derivados (esencialmente la aflatoxina M<sub>1</sub>), vinos, especias y otros géneros alimenticios. Las aflatoxinas son cancerígenas, teratogénicas y mutagénicas, hepatotóxicas e inmunosupresivas, afectando al hígado, riñón y cerebro (**Gimeno, 2003**).

## BIOSÍNTESIS O SÍNTESIS DE AFLATOXINAS

Las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar cuando en determinadas condiciones físicas, químicas y biológicas se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los mohos. Estos ácidos grasos son metabolitos primarios utilizados por los mohos como fuente de energía. Las micotoxinas se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho. **(Gimeno, 2003)**

Se ha establecido que existe una estrecha asociación entre la biosíntesis de aflatoxinas y la de los lípidos. **Towsend y col. (1984); Cleveland y Bhatnagar,(1991)** y además en algunos casos, la síntesis de proteínas disminuye durante la fase de producción de aflatoxinas **Magno y col. (1997)**.

Al inicio del crecimiento del hongo existe poca o ninguna producción de aflatoxinas, pero al reducirse los niveles de fosfatos y nitrógeno en el medio, el metabolismo primario se desorganiza, acumulándose varios metabolitos primarios y se empiezan a producir aflatoxinas. **(Drew y Demian, 1987)**.

**Tabla No. 4**  
**FACTORES PARA EL DESARROLLO DE LAS ALFATOXINAS**

LOCALIZACION	FACTORES
<b>*Medio ambiente</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Temperaturas desde 12 a 40°C (óptimo de 25 a 27°C)</li> <li>✓ Humedad relativa del aire entre 70-90% (óptimo 75%)</li> <li>✓ Abundante oxígeno &lt; ó = 16%</li> <li>✓ Humedad &gt; 16,5%</li> <li>✓ Aw de 0,87 a 1,0 (óptima para la producción 0,99)</li> <li>✓ Elementos nutrimentales como; carbono, nitrógeno, potasio, fósforo, azufre y magnesio)</li> </ul>
<b>**Almacenamiento de cereales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Baja limpieza, poca ventilación, Almacenados en grandes volúmenes (granos)</li> <li>✓ Mal cosechados (granos dañados ó partidos)</li> <li>✓ Temperatura de 12 a 38°C</li> <li>✓ Humedad relativa &gt; ó = 85%</li> <li>✓ La humedad en el grano (18,3-18,5)</li> </ul>

\*MORENO, 2004

\*\*LINDON Y LORIENT, 1996

Tabla No. 5

CONDICIONES PARA LA PREVENCIÓN DEL DESARROLLO Y PRODUCCIÓN DE AFLATOXINAS

LOCALIZACIÓN	FACTORES
<p><b>*Durante el Almacenamiento , condiciones físicas</b></p>	<p>Para mantener granos sanos y libres de microorganismos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Con aireación la humedad debe ser de 11-14%</li> <li>✓ Con secado artificial humedad &gt; ó = 16%</li> <li>✓ Temperatura 25°C</li> <li>✓ Tener buenas prácticas como: aireación, ventilación o constante movimiento del grano.</li> </ul>

<p>INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE HONGOS POR ALGUNOS COMPUESTOS QUÍMICOS</p>	
<p><b>Agentes Antifungales</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ácido propiónico, agente antifungistático contra <i>A. flavus</i> **</li> <li>➤ Ácido sórbico, inhibe el crecimiento y producción de aflatoxinas de <i>A. flavus</i> Link y <i>A. flavus</i> Speare, sin embargo los niveles subinhibitorios del ácido sórbico estimulan la producción de aflatoxinas***</li> </ul>

\*\*Dixon y Hamilton, 1981, \*Lindon y Lorient, 1996., \*\*\*Yousef y Marth, 1983

En general a los mohos podríamos considerarlos como simples “gérmenes vegetales” que contaminan el medio ambiente, alimentos, animales, locales y útiles de almacenaje y manejo, vivienda, etc.

El desarrollo de los hongos, al igual que los seres vivos, está condicionado profundamente por el medio ambiente. **(Peñalver, 1979)**

A raíz de la influencia que los factores climáticos tienen en el desarrollo de estos microorganismos que dan origen a las aflatoxinas, estas incrementan su presencia cuando las condiciones de almacenamiento son inadecuadas, si a esto sumamos el desconocimiento del productor más los factores de tipo económico, esto nos puede conducir a cometer errores serios de manejo ocasionando graves daños. **(Engormix, 2003).**

Los elementos básicos que provocan el desarrollo de micotoxinas son la humedad, el oxígeno, el tiempo, la temperatura y un substrato (p.e. los cereales).

La fuerza con la que el problema impacta en la producción depende a su vez de otros factores como son: el manejo que se le da a los granos, el clima, etc. Así mismo se ha establecido, que las cosechas se contaminan durante su cultivo; especialmente cuando las plantas sufren algún *stress* (como consecuencia de la sequía o por la acción de los insectos). Un secado inadecuado de las cosechas antes del almacenamiento y diversos fallos en las condiciones del mismo **(Howard, 1986).**

El agua y el oxígeno son absolutamente necesarios para el crecimiento de los hongos, y se requieren también los siguientes elementos: carbono, nitrógeno, potasio, fósforo, azufre y magnesio.

La cantidad de sustancias nutritivas precisas para mantener el crecimiento de los mohos es muy reducida. Los mohos invaden el pan, la fruta y cereales como el maíz, cebada. Avena, soja, trigo y arroz entre otros.

Cabe mencionar algunos otros factores para el desarrollo de aflatoxinas como son:

FACTORES BIOLÓGICOS

FACTORES QUÍMICOS

FACTORES AMBIENTALES

## FACTORES BIOLÓGICOS

### VARIABILIDAD DE LA CEPA

Como ya se ha señalado, las aflatoxinas son producidas por las especies *A. flavus* Link y *A. parasiticus* Speare. Sin embargo, los tipos de toxina producida son específicos de las especies *A. flavus* L. producen principalmente AFB1 Y AFB2, mientras que *A. parasiticus* S. produce AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2. Además no todas las cepas producen aflatoxinas (**Ellis y col. 1991**).

Si una cepa tiene el potencial genético para producir aflatoxinas, el nivel de producción dependerá de otros factores, tales como el sustrato, el efecto de la competencia con otros hongos y las condiciones ambientales.

## CANTIDAD DE INOCULO

El número de esporas inoculadas, puede también afectar la biosíntesis de aflatoxinas y la producción “*in vitro*”.

**Jinks en 1969**, reportó que la producción de aflatoxinas en el laboratorio está relacionada con la diferenciación y ramificación del micelio. Con grandes poblaciones de esporas, se reducen las posibilidades de producción de toxina, por falta de nutrientes y por la liberación de sustancias de envejecimiento. En cambio, cuando hay pequeñas cantidades de esporas, hay más ramificaciones laterales del micelio, lo que influye en la síntesis y en la alta producción de aflatoxinas.

La fase **lag** incrementa cuando hay menos esporas y hay una correlación lineal entre la fase **log** y la fase **lag** de acuerdo al tamaño del inóculo en *A. flavus* L. (**González y col. 1987**).

**Karunatatne y Bullerman (1990)**, reportaron que la máxima producción de aflatoxinas ocurre con una carga de esporas de  $10^3$  esporas/ml. En los niveles superiores o menores a este se presenta un decremento en la producción de aflatoxinas a temperaturas de crecimiento óptimo.



## FACTORES QUÍMICOS

### SUSTRATOS Y NUTRIMENTOS

El tipo de sustrato también afecta la síntesis y los niveles de producción de aflatoxinas. Los sustratos con altas concentraciones de carbohidratos y ácidos grasos aumentan la producción de aflatoxinas. Sin embargo, *A. flavus* Link puede utilizar bajas cantidades de carbohidratos y producir cantidades grandes de aflatoxinas.

Los estudios han demostrado que la producción óptima de aflatoxinas ocurre sobre un sustrato sólido rico en carbohidratos como en coco, trigo, arroz y semilla de algodón.

La incidencia natural de aflatoxinas es alta en el maíz y cacahuate, mientras que en granos pequeños (sorgo, avena, trigo, arroz, cebada y centeno) parecen ser menos susceptibles a la contaminación por aflatoxinas. **(Smith Y Moss, 1985).**

La biosíntesis de aflatoxinas y los niveles de producción son influenciados por la composición de nutrientes del sustrato. Los azúcares simples tales como la glucosa, fructosa, maltosa y sacarosa son la fuente de carbono preferida para la biosíntesis de aflatoxinas en *A. flavus* L. **(Davies y Diener, 1986).**

El calcio es importante en el crecimiento de los hongos y en la biosíntesis de las aflatoxinas, ya que participa en los procesos intracelulares y si carece de éste, se inhiben el crecimiento y la producción de aflatoxinas **(Praveen y Subramanyam, 1999).**

## FACTORES AMBIENTALES

### TEMPERATURA

El rango de temperatura óptimo para el crecimiento del hongo y la producción de aflatoxinas está entre 25°C a 30°C **Bullerman (1979)**. Sin embargo, en la naturaleza, las temperaturas son pocas veces constantes debido a las variaciones estacionales o por calentamiento espontáneo de los granos en los almacenes.

Como un resultado de la variación de temperatura, la producción de aflatoxinas puede variar considerablemente. A bajas temperaturas, la cantidad de AFB y AFG son aproximadamente iguales, mientras a altas temperaturas la producción de las AFB es predominante, en comparación con las AFG.

Ha sido demostrado que mientras la AFB1 y AFG1 fueron producidas en igual cantidad de 15 °C hasta 18°C, éstas fueron producidas en una proporción de 12:1 a 32°C **Diener y Davis (1969)**. El decremento en la producción de aflatoxinas ha sido atribuido al acelerado catabolismo de la AFG1 a altas temperaturas del almacenamiento (**Schroeder y Hein, 1967**).

### HUMEDAD

Todos los hongos precisan una cierta cantidad de agua para su desarrollo, algunas especies se desarrollan con un grado de humedad escasa, pero afortunadamente la mayoría requieren un ambiente húmedo, llegando incluso a necesitar agua en estado líquido para germinar las esporas. Para los granos una humedad superior al 14% es peligrosa. Este umbral es más bajo para las harinas, salvados y subproductos, que es del 13% (**Peñalver, 1979**)

## LA ACTIVIDAD DE AGUA

La actividad de agua es la relación de la presión de vapor de agua del sustrato con la presión de vapor de agua pura, en una determinada temperatura y presión.

A baja actividad de agua, esta es retenida por las sales, azúcares, proteínas y otros solutos, por lo tanto el crecimiento de los hongos no puede ocurrir sin que el agua este presente de forma disponible. La producción de aflatoxinas decrece en valores de actividad de agua debajo de 0,85. Sin embargo el crecimiento del hongo puede todavía ocurrir en valores de actividad de agua de 0,78 hasta 0,80.

La mínima actividad de agua para el crecimiento de *A. flavus* Link ha sido reportada como 0,78 a 0,84, mientras la mínima actividad de agua para la producción de la toxina fue encontrada en 0,84. Para *A. parasiticus* S. tiene un mínimo de actividad de agua para su crecimiento de 0,84 y para la producción de aflatoxinas el mínimo de actividad de agua es de 0,87 **Ellis y col. (1991)**. La actividad de agua óptima para la producción de aflatoxinas para ambos *A. flavus* L. y *A. parasiticus* S. está en el rango de 0,95 hasta 0,99 **(Diener y Davis, 1967)**.

Las diferencias pueden ser atribuidas a diferentes factores, incluyendo la cepa del hongo usada, pero también a la composición de los sustratos, los cuales, de acuerdo a **Northolt y col. (1976)** parecen jugar un papel importante, al igual que la actividad de agua respecto a la producción de aflatoxinas.

## LUZ ESCASA

No es posible generalizar en cuanto a la influencia de la luz sobre el desarrollo de los hongos. La prolongada exposición de los rayos ultravioleta, por ejemplo -de los que no

olvidemos el sol poseen sus radiaciones- tiene efectos letales tanto para el micelio como para las esporas.

En general podemos decir que los lugares sombríos favorecen al crecimiento del moho, dado que poseen mayor humedad, factor muy determinante para el crecimiento y germinación de las esporas del hongo, y teniendo en cuenta que los mohos no precisan la luz, pues carecen de clorofila, y por tanto no realizan la fotosíntesis.

Los efectos de la luz sobre la producción de aflatoxinas para *A. flavus* Link, han sido estudiados por **Bennett y col. (1978)**, demostraron que la producción de aflatoxinas es inhibida por la luz, en cualquiera de las temperaturas bajas y altas, pero no para las temperaturas intermedias, entre 20 y 25°C.

La intensidad de luz juega un papel importante en la destrucción de las aflatoxinas; **Shantha y col. (1986)**, reportaron un incremento en la degradación de aflatoxina B1 con el incremento de la intensidad de luz.

## **POCA AIREACION**

Un grano aglutinado sin aireación, favorece la formación de bolsas de microclima adaptadas por el hongo para su mejor desarrollo. Por el contrario los lugares aireados favorecen la buena conservación del grano. Un maíz secado en un lugar fresco, seco y colgado de sus mazorcas no permite la proliferación de hongos. Claro que este sistema de secado es ideal, pero no práctico, ya que no es aplicable para el almacenamiento de cantidades importantes de grano (**Moreno, 2004**).

## pH

Los mohos comunes siempre que las circunstancias les sean favorables toleran amplias variaciones de la concentración de hidrogeniones. Muchas especies, sobre todo *Aspergillus*, producen cantidades considerables de ácidos orgánicos, hallándose muy a menudo los ácidos oxálico, cítrico y glucónico, y con menor frecuencia otros, esto constituye un medio apropiado para la multiplicación del número de mohos de la colonia, pues desciende el pH a un medio ligeramente ácido, que es el más favorable para la germinación de esporas y el crecimiento rápida de las colonias jóvenes.

Así los hongos se desarrollan bien a un pH próximo a 5,5 soportan bajos pH algunas especies, llegando incluso, si el sustrato es muy proteínico, a vivir en un pH de 2,5.

Durante el crecimiento de los hongos, el pH del sustrato puede fluctuar entre 4 hasta 5 como resultado de la actividad de los hongos *A. flavus* L. son capaces de crecer sobre un amplio rango de valores de pH con un crecimiento óptimo en los rangos de 5 hasta 8 de pH (**Moreno, 2004**).

**Lie y Marth (1968)** reportaron que *A. flavus*. y *A. parasiticus* fueron capaces de crecer sobre un rango de pH de 1,7 hasta 9,3, con un crecimiento óptimo de pH entre 3,42 y 5,47. Sin embargo, la producción de aflatoxinas no ocurre de igual manera en todos los niveles de pH. Por lo tanto, mientras los hongos en general, pueden tolerar más condiciones ácidas, estas condiciones inhiben la producción de aflatoxinas.

## AFLATOXINAS Y SUS EFECTOS

En cuanto a su importancia, se sabe que prácticamente todos los seres vivos son susceptibles a las aflatoxinas *A. flavus* L. está adaptado a colonizar un amplio espectro de fuentes orgánicas, pero también es un organismo patógeno oportunista en plantas, insectos y vertebrados, incluyendo al hombre **Bhatnagar y col. (1994)**; sus efectos pueden ser agudos o crónicos dependiendo del organismo afectado, la dosis y la frecuencia de exposición.

La sensibilidad a las aflatoxinas varían entre las especies, al edad y el sexo en los animales, así como la composición de la dieta **Krishna y Sinha, (1991)**; algunas bacterias se inhiben en su presencia, algunas plantas desarrollan albinismo (plantas sin clorofila), las semillas pierden capacidad de germinación **Peña y Durán, (1990)**. Desde hace más de 30 años se descubrió que las aflatoxinas son sustancias muy potentes inductoras de cáncer en animales de laboratorio **Wogan y Newberne,(1967)**.

Las aflatoxinas son consideradas como genotoxinas ya que pueden unirse al ADN del individuo que lo consume y pueden activar elementos genéticos móviles como son provirus y retrovirus del genoma, generando una desestabilización del mismo que conduce a distintas anormalidades **Lillehoj (1991)**. De todas las aflatoxinas la B1 se considera la más tóxica y en orden decreciente le siguen: AFG1, AFB2, AFG2, AFM1 y AFQ1 **Betina, (1989)**. Las estructuras de estas aflatoxinas se muestran en la figura No. 3 (**Moreno y Gutiérrez, 1991**)

La toxicidad de las aflatoxinas está ampliamente investigada, esto obedece directamente a la repercusión en la salud humana, así como a las pérdidas materiales y económicas en el sector pecuario, que puede ocasionar una intoxicación aguda como la descrita anteriormente en los años 60's con pavos en Inglaterra.

La exposición crónica a niveles bajos de aflatoxinas es muy probable que ocurra con mayor facilidad que una exposición aguda. En la literatura, existen evidencias de que una exposición crónica de AFB1 en animales de experimentación, produce cáncer y daños en el hígado (**Roebuck y Maxuitenko, 1994**).

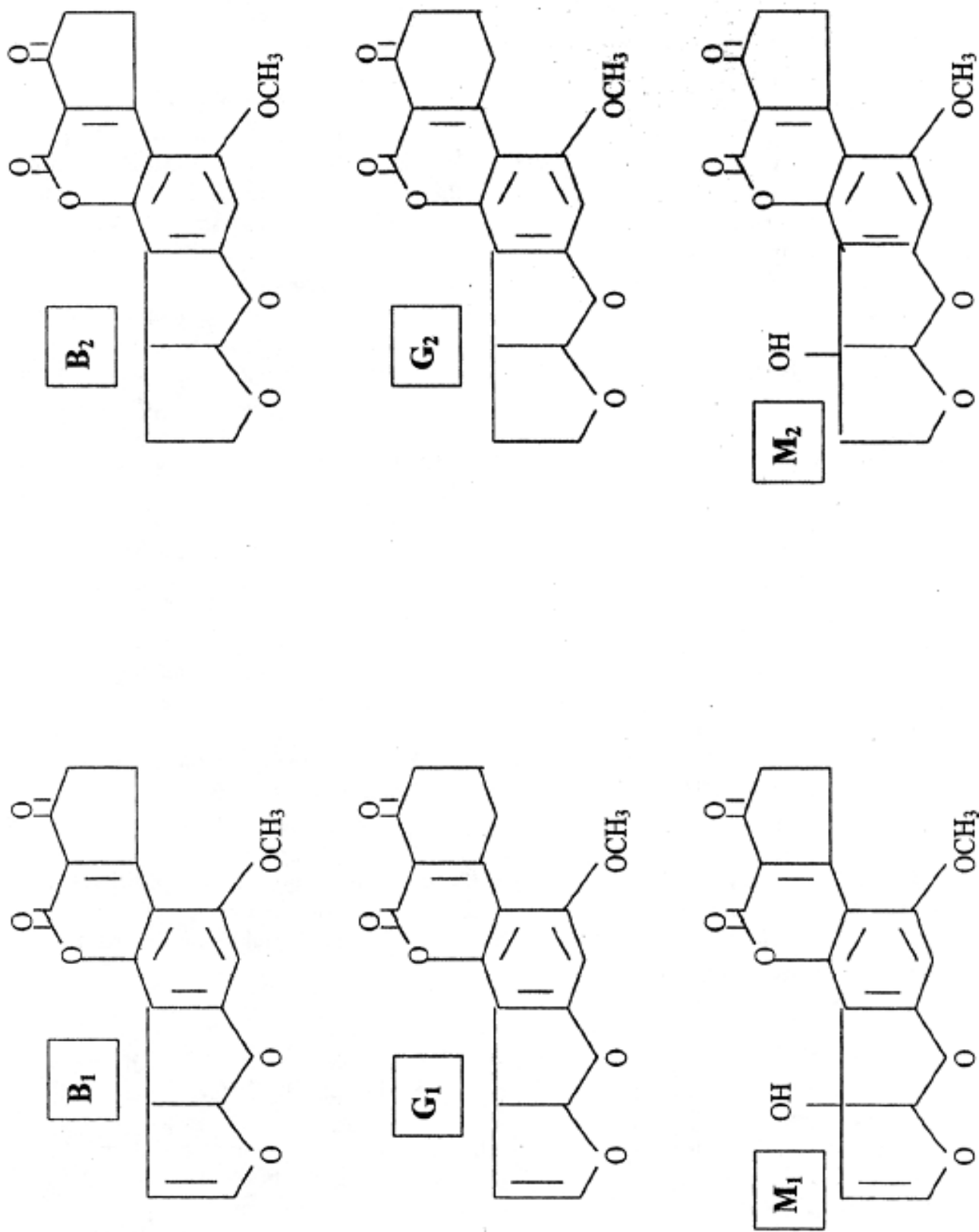


FIGURE 1. Structure of some commonly occurred aflatoxin molecule.



## PRODUCCIÓN DE AFLATOXINAS EN MAIZ

Uno de los factores que reduce la calidad nutrimental y sanitaria de los granos de maíz, es la contaminación de éstos con metabolitos tóxicos producidos por hongos toxigénicos.

La prevención es el principal enfoque que se le debe dar al problema de la contaminación de los granos con los metabolitos de estos hongos. Sin embargo, prevenir la producción de aflatoxinas en el campo no es una tarea fácil; dicho riesgo puede ser aminorado mediante la aplicación de ciertas prácticas de cultivo desfavorables para el establecimiento del *Aspergillus flavus* en la mazorca de maíz **(Lisker y Lillehoj, 1991; Rodríguez-Del-Bosque, 1996)**.

Otra manera de controlar los hongos productores de aflatoxinas es el uso de funguicidas; sin embargo, se ha encontrado que las sustancias (sales de ácidos orgánicos) que pueden ser usadas en granos alimenticios imparten a los granos olores y sabores desagradables al hombre y su uso está orientado a la preservación de maíz destinado a la alimentación del ganado **(Raeker y Col.,1991; Sauer y Burroughs, 1974 )**.

Por otra parte, hay investigación que muestra el beneficio de tratar las semillas de maíz con ciertos funguicidas para proteger su viabilidad de la acción de los hongos de almacén, pero su uso está restringido solamente a las semillas por su alta toxicidad y no pueden ser utilizados en granos destinados a la alimentación **(Moreno y Ramírez, 1985)**.

Considerando todo lo anterior, y teniendo en cuenta que en ciertas regiones del país, tanto por cuestiones climáticas como tecnológicas se dificulta el almacenar los granos con bajos contenidos de humedad, se ha considerado importante explorar otras alternativas para el almacenamiento de granos destinados a la alimentación del hombre, entre ellas, el almacenamiento hermético.

La efectividad de este método se basa en el consumo del oxígeno y en la producción de bióxido de carbono por la respiración de los insectos, los hongos y del mismo grano, lo cual crea una atmósfera letal para los insectos e inhibitoria para los hongos **(Hyde, 1965; Banks, 1981; Kawasugi y Col. 1994)**.

La presencia de aflatoxinas es inevitable en algunos lotes de maíz, dada las condiciones en las que las micotoxinas se forman, tanto en la planta en pie, en el campo, como durante el manejo poscosecha, hasta su utilización. Además, la presencia de aflatoxinas en este cereal no está limitada a una región climática o geográfica y no se encuentran en todo el maíz que se produce o se almacena. Por tanto, las agencias gubernamentales de muchos países, ligadas a la salud y calidad de los alimentos, importadores o exportadores de maíz, han establecido normas y restricciones para algunas micotoxinas en la cadena alimentaria.

Es importante poner atención a los almacenamientos y a los transportes para evitar que niveles peligrosos de aflatoxinas lleguen a la población. También es importante destacar que las aflatoxinas tienen efecto acumulativo en los animales, por lo que no se debe despreciar la presencia de aflatoxinas aun en niveles por debajo de los establecidos en las normas **(García y Col., 2001)**.

## PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DEL MAÍZ CON AFLATOXINAS EN EL CAMPO

La prevención mediante el control antes de la cosecha es el primer paso para asegurar un producto final.

La invasión de *Aspergillus flavus* L. y producción de aflatoxinas ocurre frecuentemente en el campo, cuando el maíz es atacado por los gusanos de la mazorca. Una vez infectado el cultivo en las condiciones reinantes en el campo, la proliferación de los hongos proseguirá durante las etapas posteriores a la cosecha y el almacenamiento.

Por consiguiente, el control antes de la cosecha está orientado a afrontar críticos que potencian la producción de micotoxinas. Algunas de las principales estrategias utilizadas son las siguientes:

- ❖ Manejo adecuado de riego y el estado del suelo (temperatura y una humedad relativa elevadas son esenciales para la germinación de las esporas y la proliferación fungosa).
- ❖ Desarrollo de maíces comerciales resistentes a la invasión de los hongos toxígenos y a la síntesis de las Aflatoxinas. **Zuber y col., (1983); Widstrom y col., (1987); Zeringue y McCormick (1990); Zeringue y col., (1996)** demostraron que diferentes genotipos de maíz tiene compuestos químicos volátiles que afectan significativamente el crecimiento de los hongos y la producción de aflatoxinas. La producción de aldehídos volátiles por la planta hospedera, es utilizada como resistencia a hongos que producen aflatoxinas. Sin embargo, no todos los compuestos volátiles son útiles contra la invasión de los hongos.

- ❖ Manejo adecuado de los residuos agrícolas, destrucción de malezas (medio apropiado para la supervivencia de esporas de hongos) y la práctica de la rotación de cultivos.
- ❖ Control de la infestación por insectos de los granos y prevención de daños mecánicos de los productos; daños que facilitan la entrada de microorganismos como las micotoxinas y por lo tanto la posterior producción de aflatoxinas.
- ❖ Cosechar tan pronto se alcance la madurez fisiológica del maíz, de tal manera que se evite que el grano permanezca mucho tiempo en el campo.

## **CONTROL DESPUÉS DE LA COSECHA Y DESCONTAMINACION**

Es esencial que el producto esté suficientemente seco para evitar la proliferación de hongos durante el almacenamiento.

Aunque la prevención es la mejor estrategia de control, no siempre es posible lograrlo, y habrá contaminaciones con aflatoxinas. Por consiguiente, los procedimientos de control después de la cosecha y de descontaminación representan un medio importante para evitar la exposición de los consumidores.

Entre los criterios específicos para la evaluación y aceptación de determinados procedimientos de reducción de las micotoxinas o de descontaminación se incluyen los siguientes:

- Inactivar, o eliminar las toxinas.
- En los productos, como el maíz para el ganado, no deben quedar toxinas por arriba de los límites establecidos por las normas.

- Conservar el valor nutrimental y la aceptabilidad del producto para alimento animal.
- No alterar de modo apreciable las propiedades físicas y nutrimentales del producto.
- Si es posible, destruir las esporas de los hongos toxigénicos, que no vayan en el alimento descontaminado (**Moreno, 2004**).

## **DESCONTAMINACION DE LOS ALIMENTOS CON AFLATOXINAS**

El riesgo provocado por el posible consumo de aflatoxinas, ha llevado al desarrollo de métodos para su eliminación. En la destoxificación se han propuesto varios métodos, que incluyen tratamientos químicos y físicos o ambos. No se debe ocasionar alteraciones organolépticas ni nutricionales en los alimentos.

La molécula de la AFB1 muestra dos sitios importantes de actividad tóxica, el primero se localiza en el doble enlace de la posición 8,9 del anillo furano y el segundo sitio reactivo se encuentra en el anillo de lactona, el cual es fácilmente hidrolizable, y es el responsable de la fluorescencia. Lo que sugiere que al remover el doble enlace o abrir el anillo de lactona, se puede degradar la molécula (**Samarajeewa y col. 1990**).

## **TRATAMIENTOS QUÍMICOS**

Se ha demostrado que la reducción de la contaminación de alimentos con aflatoxinas es factible y práctica, si se hace por medio de tratamientos químicos. Para éstos se han empleado diversos agentes químicos, los más eficientes son los agentes

oxidantes e hidrolíticos. Es importante señalar que la mayoría de los estudios se han realizado con la AFB1 pura. Dichas sustancias actúan en alguno de los sitios activos de la molécula de la AFB1 (residuo de cumarina y doble enlace terminal en el furano), provocando con ello su degradación **(Moreno, 2004)**.

### **ALCALINIZACION**

Se ha postulado que el tratamiento alcalino provoca la degradación de la AFB1 y esto lo hace abriendo (hidrolisis) el anillo de lactona presente en la molécula **(Samarajeewa y Col. 1990)**.

### **AMONIACO**

La amoniación es el método químico al que las investigaciones han prestado más atención. Los resultados de una amplia evaluación de ese procedimiento demuestran la eficacia e inocuidad de la amoniación como solución práctica para descontaminar piensos contaminados con aflatoxinas. Este proceso, eficaz en más del 99 % de las veces, se ha utilizado con éxito de manera selectiva en los Estados Unidos, Francia, Senegal, Sudán, Brasil, México y Sudáfrica, en algunos casos durante casi veinte años. Aunque lo está examinando, la FDA no ha dado todavía su aprobación final al procedimiento de amoniación.

El tratamiento de granos con amonio parece viable, esto implica el tratamiento del alimento en estado molido utilizando hidróxido de amonio o amoniaco bajo condiciones de alta presión y temperatura o a presión atmosférica y temperatura ambiente. El primero de ellos se aplica en las fábricas de piensos, mientras que el segundo se utiliza principalmente en el ambiente agrícola.

Esto implica la hidrólisis del anillo de lactona y la conservación del compuesto original en numerosos productos con un decreciente grado de toxicidad. Este proceso es usado para detoxificar granos de maíz, pasta de cacahuete y semillas de algodón **(López-García, 1999)**.

El amoníaco en estado gaseoso o en soluciones, con o sin aplicación de temperaturas, y con o sin presión, parece ser la forma más eficiente para descontaminar materiales con aflatoxinas.

Este medio puede reducir los niveles de aflatoxinas en maíz y sus productos hasta en un 90%. Sin embargo, aun cuando el proceso de amonización incrementa el nivel total de nitrógeno, el contenido de lisina y metionina se ven disminuidos, lo que le confiere menor valor nutrimental al alimento **(Samarajeewa y Col. 1990)**.

## **PEROXIDO DE HIDRÓGENO (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

El peróxido de hidrógeno es un desinfectante, en lugar de un conservador, porque mata rápidamente a los microorganismos, siempre que se emplee la concentración adecuada. El peróxido de hidrógeno no tiene acción persistente, puesto que una vez que ha actuado sobre el material se descompone rápidamente.

El efecto antimicrobiano del peróxido de hidrógeno se basa, esencialmente en su acción oxidante. Ésta determina cambios irreversibles en los microorganismos. Las enzimas, constituyentes de la membrana y lípidos, son inespecíficamente oxidadas y por consiguiente inactivadas.

El peróxido de hidrógeno actúa principalmente sobre las bacterias, mientras que levaduras y mohos sólo son destruidos a concentraciones relativamente altas. El peróxido de hidrógeno incrementa la sensibilidad de las esporas al calor **(Luck y Pager, 2000)**.

Este compuesto ha sido empleado como técnica común para la descontaminación oxidativa de pastas de cacahuete contaminadas con aflatoxinas. La adición de compuestos básicos facilita la degradación oxidativa de la toxina y ello ocurre por el ataque del peróxido al anillo de furano que facilita que se reduzca el doble enlace en la molécula de la toxina.

Un 3% de  $H_2O_2$  ha sido empleado en maíz para reducir los niveles de aflatoxinas de 397 ppb a menos de 20 ppb, además las pérdidas de proteínas y lípidos son menores de 6% (Ellis et. al., 1991). Se ha observado que los residuos presentes en alimentos tratados con este químico no son tóxicos por si solos (**Samarajeewa y Col. 1990**).

## **PEROXIDASA**

La AFB1 producida por *A. flavus* L., detoxificada *in vitro*, hasta un 60% por la peroxidasa de rábano comercial. Se extrajeron y purificaron parcialmente peroxidasa de la raíz del rábano fresco, se agregaron sobre la toxina *in vitro* con la reducción aproximadamente entre 30 y 38% en los niveles de ésta. La reacción enzimática óptima ocurre en un buffer de fosfato a una temperatura de 20° C, pH 6, en un tiempo de incubación de 60 min y presión normal (**Das y Mishra, 2000**).

## **HIPOCLORITO DE SODIO**

Se ha demostrado que este compuesto tiene efectos positivos en la degradación de aflatoxinas en alimentos. Se han probado soluciones con diferentes concentraciones y se encontró una degradación casi total tanto cuando se utilizó la AFB1 pura, como en alimentos para ganado **Mann y col. (1970)**. Sin embargo la presencia de cloro



residual en alimentos tratados, la producción de grasas modificadas y proteínas con toxicidad desconocida debidas al tratamiento aplicado deben ser estudiadas más a fondo para evitar daño a la salud **(Samarajeewa y Col. 1990)**.

## **OZONO**

El ozono destruye rápidamente a los microorganismos si se usa en la concentración requerida, es por tanto un desinfectante más que un conservante. La acción microbiana del ozono se basa, esencialmente, en su poderoso efecto oxidante que causa lesiones irreversibles en los ácidos grasos de la pared celular y en las macromoléculas celulares, tales como proteínas y DNA. Esta acción es particularmente efectiva a alta humedad relativa del aire **(Luck y Pager, 2000)**.

Es un agente oxidante muy poderoso, por lo que tiene un potencial elevado para la degradación de aflatoxinas mediante el ataque al doble enlace 8, 9 del anillo furano. Se ha informado que el ozono reduce los niveles hasta en un 91% en semillas de algodón (con 22% de humedad), tratamiento que degradó la calidad nutricional, ya que el contenido de lisina se vio disminuido, siendo esto una desventaja de este método **(Samarajeewa y Col. 1990)**.

## **OTRAS SUSTANCIAS QUÍMICAS**

Una variedad de otros químicos han sido probados para evaluar su habilidad en la destrucción de aflatoxinas. De ellos se han preparado soluciones conteniendo diferentes concentraciones de metanol, aldehídos, peróxido de benzoílo,

permanganato de potasio, los cuales son notablemente eficientes, sin embargo su aplicación en alimentos es restringida por problemas de salud que pueden causar los residuos químicos (**Moreno, 2004**).

## TRATAMIENTOS FISICOS

### TEMPERATURA

Las aflatoxinas pueden ser destruidas parcialmente por tostado o rostizado, estando directamente relacionado con la temperatura empleada, el tiempo y el contenido de humedad. En cuanto a otros tratamientos térmicos (pasteurización, horneado, esterilización, etc.) los datos son contradictorios **Purchase y Col. (1972)**; **Stoloff y Col. (1975)**. La AFB1 es estable a 260° C, siendo su punto de fusión, y aunque la temperatura de descomposición es de 269° C, se ha observado que en algunos alimentos se necesitan temperaturas tan altas como 300° C para eliminar la toxina. Las temperaturas necesarias van a depender de las condiciones ambientales a las que están expuestas las aflatoxinas **Samarajeewa y Col. (1990)**. Por lo tanto debe tenerse especial cuidado en las condiciones bajo las cuales se cultiva el maíz, así como en las prácticas de almacenamiento de los granos; éstos es, en su etapa de poscosecha.

## RADIACIONES

Bajo condiciones apropiadas de luz las aflatoxinas pueden ser degradadas, especialmente con la luz ultravioleta. La luz solar ha sido utilizada para reducir los niveles de aflatoxinas en pastas de cacahuete y aceites vegetales (**Rustom, 1997**).

La luz ultravioleta ha sido ampliamente utilizada en la degradación de AFB1 en leche, el proceso puede llegar a eliminar toda la toxina de la leche y lo hace más eficiente en presencia de peróxido de hidrógeno **Yousef y Marth (1987)**. La AFB1 absorbe radiación UV en su mayoría a 362 nm en la cual su actividad aumenta haciéndose más susceptible a su degradación, siendo afectada en la parte terminal del anillo furano. Sin embargo, pruebas de laboratorio indican un uso limitado ya que los compuestos de degradación parecen ser tóxicos.

La radiación gama aplicada a semillas de *Nigella sativa* invadida de *Aspergillus flavus* L.,

Se indicó que ninguna cepa radioresistente puede producir micotoxinas, encontrando que estaban libres de AFB1, AFB2, AFG1, y AFG2. La radiación gama en una dosis de 6,0 Kg hizo que las semillas estuvieran libres de hongos. La radiación gama causa inhibición de la germinación de las esporas y como consecuencia decrece el peso seco del micelio (**El-Bazza y Col., 2001**).

## ATMÓSFERAS MODIFICADAS

Una atmósfera modificada es aquella en la cual la composición normal del aire ha sido cambiada; regularmente se disminuye la cantidad de  $O_2$  mientras que se aumentan las concentraciones de  $CO_2$  y  $N_2$ . Este tipo de tratamientos han sido utilizados para

controlar el crecimiento de *A. flavus* L. y con ello la producción de aflatoxinas (**Moreno y Col., 1987; Ellis y Col., 1991; Dharmaputra y Col., 2000**).

## **ADSORCION**

**Masimango y col., (1978)** mostraron que la AFB1 en solución era adsorbida por la bentonita cuando ésta se adicionaba a la solución, de tal forma que al remover la bentonita se observó que gran parte del contenido de la aflatoxina presente era removida de la solución. La característica de la bentonita de adsorber y retener las aflatoxinas, depende del tamaño de la partícula y de la temperatura del tratamiento (**Ellis y Col., 1991**).

Los aluminio-silicato de sodio y de calcio tienen una alta afinidad por las AFB1. En un estudio se observó que el 80% de las aflatoxinas se removieron en la solución. Además en estudios *in vivo* se demostró que los aluminio-silicatos previenen la mutagenicidad y la toxicidad de la AFB1 (**Rustom, 1997**).

## **METODOS PARA DETECTAR Y CUANTIFICAR AFLATOXINAS EN MAIZ**

### **a) LA LUZ NEGRA**

El maíz contaminado con *A. flavus* L. producen una característica de fluorescencia verde-amarillo brillante cuando es examinado en un cuarto oscuro bajo una longitud de onda corta de luz ultravioleta que es comúnmente llamada luz negra (254 nm).

Esta fluorescencia es el resultado de las propiedades del ácido Kójico que es otro compuesto producido por *A. flavus* L. y que no está relacionado directamente con la aflatoxina. La prueba de luz negra es una prueba presuntiva y asume la presencia de aflatoxinas, por la presencia del ácido Kójico que indica que *A. flavus* L. está presente. Este método no determina la cantidad de aflatoxinas totales (**Moreno, 2004**)

## **b) PRUEBA DE MINICOLUMNA**

También llamada prueba de minicolumna de Holiday. Esta es una prueba para determinar aflatoxinas. Esta es rápida y relativamente económica. Es comúnmente empleada para determinar si las aflatoxinas en el maíz exceden de 20 ppb, si la muestra utilizada para el análisis es representativa de la carga completa. Este método es aceptado para determinar si la carga es aceptada o rechazada.

El procedimiento cromatográfico de minicolumna para la detección de aflatoxinas ha sido e uso general en gran número de laboratorios y es aplicado a varios productos agrícolas, sus principales ventajas son las disminución del tiempo de desarrollo, equipo y operación simple bajo costo por muestra. Probablemente su desventaja más importante es la baja sensibilidad de la prueba. La prueba de minicolumna solo indica la presencia de las toxinas, más no su tipo, por otra parte, al trabajar sobre extractos de alimentos se incrementa la sensibilidad, el manejo y el tiempo del examen (Velasco ,1973, Stubblefield, 1986, Romer y col. 1979).

Cuando se necesita determinar con un alto y grado de seguridad la concentración real de aflatoxinas en determinada materia prima, alimento contaminado o tejidos

animales, se requieren técnicas mucho más sensibles y especificaciones como la cromatografía en capa fina (CCF) y la cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) (**Stubblefield y Shotwell, 1981**).

Para las dos técnicas, el análisis químico requiere de una serie de pasos separados, antes de realizar la detección y cuantificación final (**Romer, 1976**).

Una vez molida la muestra debe ser extraída con un solvente adecuado para tratar de obtener el 100% de la toxina, evitando al máxima la extracción de impurezas. La solución extraída debe ser separada de la muestra, lo que generalmente se logra mediante filtración.

El extracto debe ser concentrado y todas las impurezas eliminadas. Esta fase de 'limpieza' puede sugerir de 2 a 4 pasos, como la precipitación de impurezas o aún, en algunos casos, el paso del extracto a través de una columna. Estos pasos de limpieza en los análisis son los que consumen más tiempo, sin embargo, esta fase es la más importante, ya que algunas impurezas encontradas normalmente en materias primas pueden interferir con la metodología de detección, tanto en CCF como en HPLC.

En la mayoría de los casos, el extracto semipurificado debe ser concentrado a un volumen conocido (usualmente 0.1- 0.2 ml). Después de completar estos pasos, el extracto está listo para continuar con la fase de detección por cualquiera de las dos técnicas cuantitativas.

### **c) CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC)**

La separación final de las aflatoxinas por Cromatografía en capa fina (CCF) se realiza por medio de cromatoplasmas de varios materiales, como alumina, sílica gel o Keisigel G, siendo la sílica gel la más utilizada, desarrollando las placas bajo diversos sistemas

de solventes, ya sea en forma unidimensional o bidimensional (Moreno y Hernández, 1988). La identificación de las toxinas se realiza mediante la detección del color la fluorescencia emitida bajo la fluorescencia emitida bajo luz UV, determinando el valor de resistencia al flujo ( $R_f$ ) de cada mancha fluorescente y comparándola contra una solución estándar de concentración conocida corrida en la misma placa. La cuantificación se realiza mediante la comparación de la intensidad de la fluorescencia de la muestra contra concentraciones conocidas de aflatoxinas, por medio de un densitometro de placa que lee el área y la densidad óptica de las manchas fluorescentes, en caso de no contar con un densitometro, se utiliza una comparación visual de la intensidad de la fluorescencia, con sistemas de aplicación antidiagonales estandarizados (**Beljaars y Col., 1973**).

La técnica de cromatografía de capa fina determina las aflatoxinas y es más precisa la medida para determinar la concentración de aflatoxinas en maíz. El método de extracción de aflatoxinas es aceptado por la **AOAC (1995)**. Este método es empleado en pruebas de laboratorio. Detecta niveles bajos como 1ng/g.

#### **d) KITS DE PRUEBAS RAPIDAS**

Con estas pruebas se puede determinar las concentraciones de aflatoxinas en maíz como son Aflatest (20-30 min), Agri-Screen (30-40 min)Ez-screen y Quick-Card (30 min).

#### **e) CROMATOGRAFÍA LIQUIDA (HPLC)**

El método de Cromatografía de Líquidos de Alta Presión es el más sensible para la detección de reportado la detección de subpicogramos de aflatoxinas utilizando HPLC

con un fluorómetro laser (que consiste en la detección de la fluorescencia usando un rayo laser) (**Diebold and Zare, 1977, Pons and Franz, 1978**).

Una idea errónea que se tiene con frecuencia es que la técnica HPLC es más rápida que la de CCF. Esto podría ser cierto si se tiene en cuenta que la detección de las aflatoxinas en un extracto usando CCF toma varias horas, mientras que el mismo extracto, cuando se analiza por CLAP toma sólo unos minutos. Sin embargo debe recordarse que los pasos de extracción, limpieza y purificación se requieren para ambas técnicas, éstos requieren de medio a uno y medio días. Adicionalmente para la CCF se requieren de unos minutos para la preparación de equipo, mientras que HPLC se requieren de un período largo antes de usar el equipo, con el objeto de que la columna y el detector electrónico se estabilicen. Quizá el atributo principal de HPLC es la fase cuantitativa del análisis siendo la sensibilidad del HPLC más elevada que la de CCF, además de que se puede conectar al cromatógrafo una computadora o una calculadora electrónica que permitirán cuantificar instantáneamente la cantidad de toxina de la muestra original, finalmente hay que tomar en cuenta el costo de los aparatos requeridos para una prueba HPLC **Wyat (1983)**. Las principales desventajas de estos métodos estriban en que requieren de una instrumentación costosa, el proceso es lento y complicado ya que solo se puede analizar una muestra a la vez.

Es similar al TLC en muchos aspectos, incluye una aplicación, una fase estacionaria y una fase móvil. Los métodos de cromatografía líquida determinan las aflatoxinas en los alimentos, incluyen una fase normal, una fase reversa y una prederivatización antes de pasar por la columna. La fase reversa es seguida por una post columna, la fase reversa es donde se hace la detección electroquímica y por fluorescencia (**Valladares, 1992**).



## f) INMUNOAFINIDAD EN COLUMNA CON ANTICUERPOS MONOCLONALES

Este método consiste en el uso de anticuerpos inmovilizados para aislar AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 y AFM1 de extractos de forrajes, alimentos, granos, leche y sus productos (VICAM, 1999).

Los anticuerpos están químicamente ligados a pequeñas esferas de vidrio y empacados en una columna, éstos actúan selectivamente atrapando a las aflatoxinas y todos los demás componentes se eluyen de la columna mediante lavados. Finalmente las aflatoxinas son removidas empleando un solvente, y una vez separadas, la medición se hace directamente en un fluorómetro, ó por HPLC o también por TLC (VICAM, 1999).

Afla Test de VICAM es el único análisis de aflatoxina que da resultados numéricos precisos. Usando la cromatografía de afinidad monoclonal, Afla Test puede aislar aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 de alimento para consumo animal y humano y granos, a niveles tan bajos como 0.1 ppb y tan altos como 300 ppb. Puede ser ejecutado en menos de 10 minutos y no requiere de habilidades especiales. Los resultados pueden ser registrados utilizando una lectura de fluorómetro digital con dispositivo automático de impresión. Afla Test es también ideal como el paso de limpieza total para cualquier análisis de HPLC (Valladares, 1992).

Sin embargo, una de las limitantes de este método (hecho ex profeso para granos), es que no puede ser empleado en el análisis de aflatoxinas en otros productos, como tejidos animales, debido a compuestos presentes en los extractos los cuales pueden causar interferencia, pudiendo bloquear los sitios de unión de los anticuerpos, haciendo prácticamente imposible la determinación.

# **CAPITULO II**

Fig. No. 4 CUADRO METODOLOGICO

**OBJETIVO GENERAL**

**Determinar la influencia de los pigmentos contenidos en el maíz de variedades de colores diferentes, como son; amarillos, azules, blancos y rojos, sobre la producción de aflatoxinas a diferentes periodos de tiempo y una condición de humedad.**

**Objetivo Particular 1**

**Actividad 1.1**

- Determinar contenido de humedad
- Ajustar humedad a 18 %

**Objetivo Particular 2**

**Actividad 2.1**

**Propiedades Físicas**

- Tamaño del grano (Largo, Ancho y Grueso)
- Peso en 1000 granos

**Objetivo Particular 3**

**Actividad 3.1**

- Extracción de pigmentos de los maíces de colores
- Prueba *in vitro*

**Objetivo Particular 4**

**Actividad 4.1** Determinación y cuantificación de aflatoxinas

- Inoculación del grano [  $1 \times 10^3$  esporas/ml ]
- Extracción-  
Cuantificación de aflatoxinas por Técnica de columnas de inmunoafinidad.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la influencia de los pigmentos contenidos en el maíz de variedades de colores diferentes, como son amarillos, azules, blancos y rojos, sobre la producción de aflatoxinas a diferentes periodos de tiempo y una condición de humedad.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

### **Objetivo particular No. 1**

Determinar el contenido de humedad en los maíces de cuatro variedades de color, mediante el Método General de esta manera se conocerá la humedad real de los maíces para después ajustar a la humedad propuesta

### **Objetivo particular No. 2**

Evaluar las propiedades físicas de los maíces de cuatro variedades de color para poder determinar si alguna de estas características predispone y hacen más sensibles a los maíces al ataque de las aflatoxinas.

### **Objetivo particular No. 3**

Realizar la extracción de pigmentos en los diferentes maíces de colores para llevar a cabo la prueba *in vitro* y determinar si estos pigmentos inhiben el crecimiento de aflatoxinas

#### **Objetivo particular No. 4**

Determinar la producción de aflatoxinas mediante su cuantificación (Técnica de Columnas de Inmunofinidad), para saber en cual de las cuatro variedades de maíz empleadas hubo la mayor concentración de aflatoxinas

#### **DESCRIPCION DEL CUADRO METODOLOGICO**

Se utilizaron variedades de maíz de cuatro colores, amarillo, azul, blanco y rojo. Se colocaron 200 g de maíz en cada frasco de vidrio (serán por cada variedad 4 frascos, por cada período 16 frascos y en total 64 frascos), se ajustaron a una condición de humedad del 18%.

El origen de los maíces rojo y azul es de la parte central del estado de Querétaro del municipio de El Márquez de la comunidad del Lobo, son maíces criollos de tipo harinoso que los agricultores siembran para la obtención de grano para la elaboración de tortilla para su autoconsumo. El maíz amarillo y blanco es importado de U.S.A. por Cargill.

#### **Actividad 1.1 CONTENIDO DE HUMEDAD**

Se realizó la determinación de humedad por el método general **(AOAC, 1990)** empleando 12 cajas de aluminio, previamente colocadas a peso constante, se

añadieron 5 g de semilla en cada caja, introduciéndose en la estufa a 100° C por 72 hr. En seguida las muestras se ajustaron a una humedad del 18 % utilizando el siguiente cálculo:

$$\frac{100 - \text{Contenido de humedad obtenido}}{100 - \text{Contenido de humedad requerido}} \times 1 \text{ X gramos de semilla que se ajustar} = \text{ml H}_2\text{O}$$

Las determinaciones se hicieron por triplicado. De los datos obtenidos sólo se reportó el promedio.

## **Actividad 2.1 PROPIEDADES FISICAS**

### **Tamaño del Grano**

Para determinar el tamaño del grano se midió el largo, ancho y espesor del centro del grano. Se midieron 12 granos tomados al azar. Se utilizó un calibrador o vernier Digimatic, Marca Mitutoyo Corp., con rango de medida de 0,01-150 mm. Las mediciones se hicieron por triplicado.

Los datos fueron reportados como el valor promedio de las mediciones.

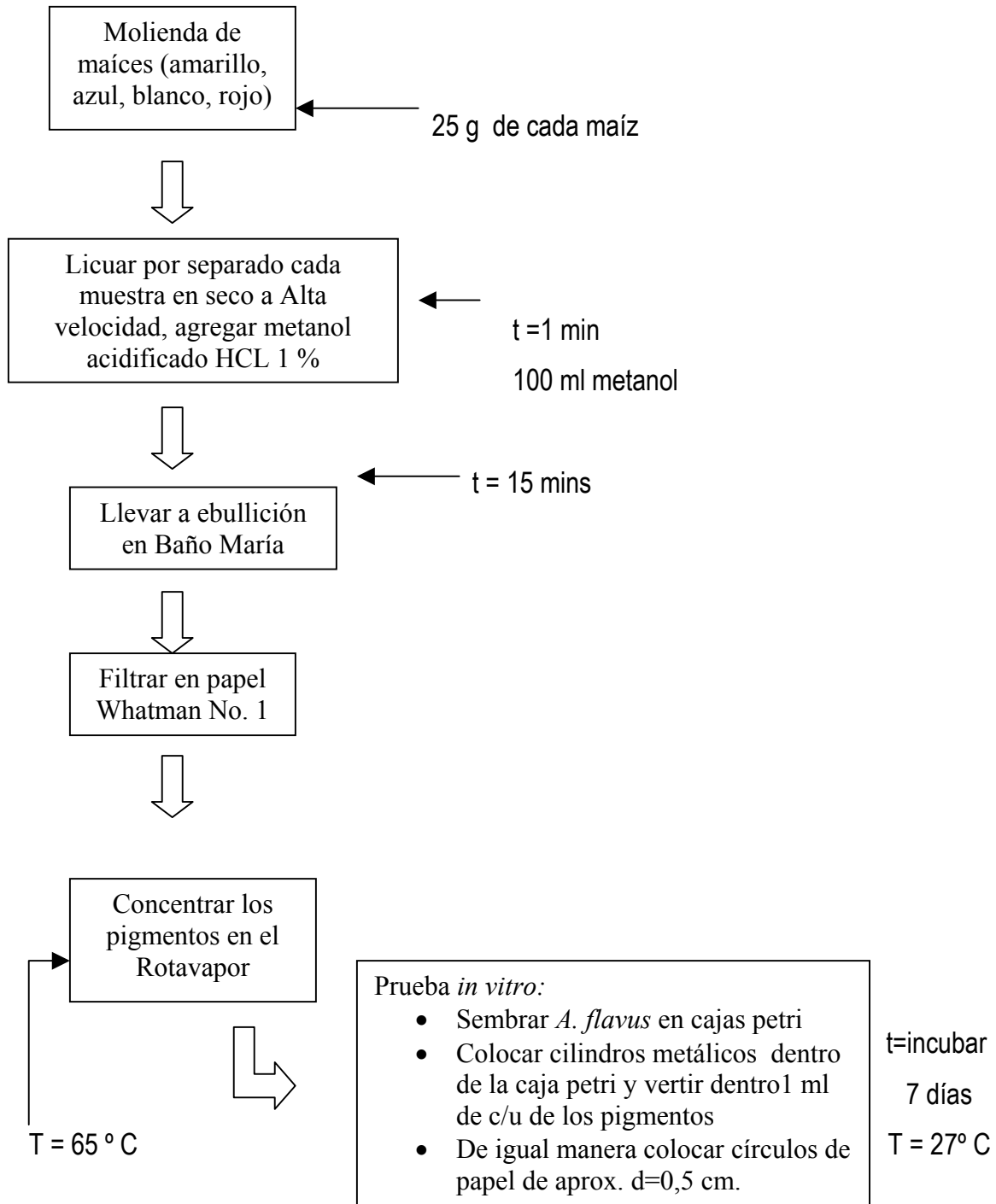
### **Peso de 1000 granos**

Se tomaron 1000 granos al azar y se pesaron en una balanza analítica Ohaus, con una capacidad de 0-210 g, y una precisión de +/- 0,0001 g. Se hicieron cinco mediciones y sólo se obtuvo la media.

### **Actividad 3.1 EXTRACCION DE PIGMENTOS DE LOS MAICES DE COLORES**

Los maíces de colores se sometieron a una molienda y se tomaron 25 g de la harina obtenida de cada maíz, posteriormente se les agregaron a cada muestra 100 ml de metanol acidificado con ácido clorhídrico al 1 %, en seguida se colocaron en Baño María hasta ebullición por 15 minutos, dejándose enfriar, después se filtraron en papel Whatman No.1, los filtrados se concentraron en el rotavapor, a continuación se colocaron en un refrigerador a una temperatura aproximada de 7° C por 24 h.

**Fig. 5 DIAGRAMA DE BLOQUES PARA LA EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS DEL MAIZ**  
**FUENTE: VALADEZ Y COL. 1999**

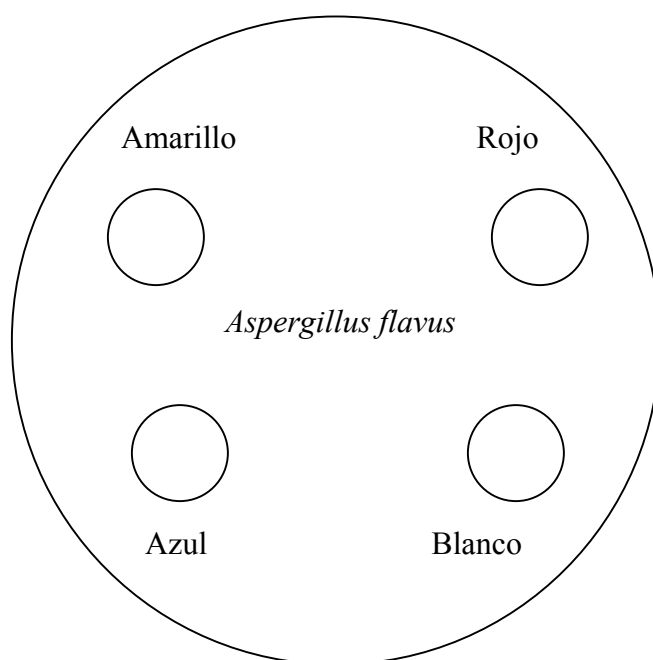




## Prueba *in Vitro*

Para esta prueba se utilizaron cajas petri con medio de cultivo agar dextrosa papa, la cepa de *A. flavus* fue sembrada ahí mismo se colocaron cuatro cilindros metálicos de aprox. 0,5 cm de diámetro, en donde se colocaron 1 ml de los pigmentos obtenidos mediante la extracción de éstos mismos. Las cajas se introdujeron a la incubadora a una temperatura de 27° C por un lapso de 7 días (**Valadez, 1999**)

Las pruebas, tanto de la extracción de pigmentos como la prueba *in vitro* se realizaron por triplicado.



**Fig. 6 Colocación de cilindros conteniendo los pigmentos dentro de las cajas petri**

## Actividad 4.1 DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE AFLATOXINAS

### INOCULACION DEL GRANO

Para este estudio se empleó una cepa de *A. flavus* Link donada por la Unidad de Investigación en Granos y Semillas de la FES-CUAUTITLAN-UNAM. La cepa se mantuvo en medio de agar dextrosa papa a 25° C para su crecimiento.

Se preparó una suspensión de esporas a una concentración de  $1 \times 10^3$  esporas / ml en solución salina fisiológica al 0,9 % con tween 80 al 1% estéril. Se llevó a cabo el recuento de esporas en una cámara de Newbauer. A continuación se inocularon frascos de 500 ml conteniendo 200 g de muestra y el inóculo fue de 1 ml. En seguida las muestras se incubaron a 27 °C durante 15, 25 y 35 días a 27°C. Denominadas también como muestreo No. 1, 2 y 3.

Al cumplir el período establecido para cada muestra. Los frascos se sometieron a un proceso de esterilización en la autoclave a condiciones de 120°C por 15 min. Con una presión de 1,5 lb. Posteriormente se colocaron en un secador a 50°C por 24 h.

## **EXTRACCION CUANTIFICACION DE AFLATOXINAS (Técnica de columnas de inmunoafinidad descrita por el fabricante VICAM en su manual)**

Para la cuantificación de aflatoxinas se pesaron 50 g de la muestra, adicionándole 5 g de NaCl y 100 ml de metanol al 80% todo esto se sometió a una molienda por 1 min. en una licuadora de uso rudo para laboratorio Marca Waring. Esta molienda se filtró en papel Watman No. 1. De este filtrado se tomaron 10 ml y se llevó a un volumen de 50 ml con H<sub>2</sub>O destilada, después se volvió a filtrar con papel microfibra. De este filtrado se tomaron 10 ml y se hicieron pasar a través de la columna de inmunoafinidad \*AFLAtest, la columna fue lavada con 20 ml de H<sub>2</sub>O destilada, posteriormente se le agregó 1 ml de metanol grado HPLC. A la muestra obtenida se le añadió 1 ml de revelador (Bromuro al 0,03%), se agitó y después se realizó la lectura en el fluorómetro obteniendo el resultado en ppb.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa "statgraphics Plus 5,0".

# **CAPITULO III**

## RESULTADOS

### Objetivo No. 1

#### Actividad 1.1 Determinación de humedad

**Tabla No. 6**  
**CONTENIDO DE HUMEDAD**

<b>Variedad de maíz</b>	<b>Contenido de humedad (%)</b>
Maíz amarillo	14.25
Maíz azul	12.30
Maíz blanco	9.63
Maíz rojo	11.86

\*La prueba se realizó por triplicado para cada variedad y se reportó la media de cada maíz

La determinación de humedad se llevó acabo solamente con finalidad de conocer el contenido inicial de está en cada variedad de los maíces utilizados para este trabajo, para posteriormente ajustar a la humedad propuesta que fue de 18%.

## Objetivo No. 2

### Actividad 2.1 PROPIEDADES FISICAS DEL GRANO

Tabla No. 7  
MEDICIONES FISICAS DEL MAIZ

<b>MUESTRA</b>	<b>Peso de 1000 granos (g)</b>	<b>Largo (mm)</b>	<b>Ancho (mm)</b>	<b>Grueso (mm)</b>
<b>Maíz Rojo</b>	309.10	12.51	8.29	4.65
<b>Maíz Azul</b>	294.41	12.58	7.69	4.44
<b>Maíz Amarillo</b>	308.49	11.78	8.21	4.37
<b>Maíz Blanco</b>	307.58	11.31	8.05	4.53

(g)= gramos; (mm)=milímetros

El maíz rojo presentó las dimensiones más grandes de 1000 granos, éste fue de 309.10 g, así mismo el largo, ancho y grosor del maíz rojo superó las dimensiones de los otros maíces.

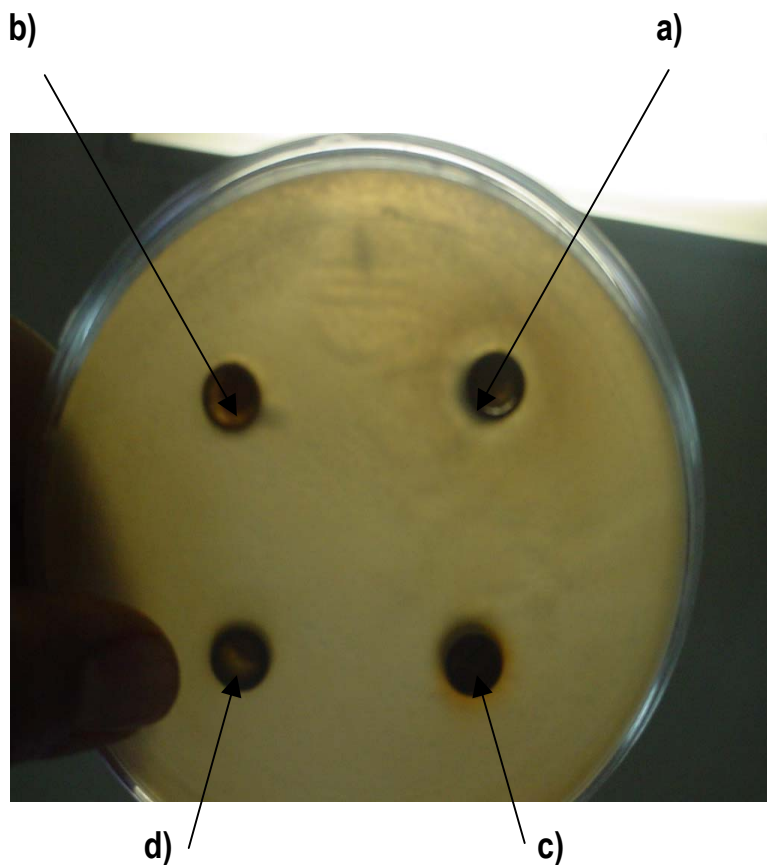
El maíz amarillo obtuvo un peso de 308.49 g, ligeramente menor al maíz rojo, así como el largo, ancho y grueso también estuvieron por debajo de los datos del maíz rojo.

Entre el maíz azul y el maíz blanco la principal diferencia fue el peso ya que el maíz blanco reportó un peso de 307.58 g y el maíz azul un peso de 294.41 g (el peso más bajo de las 4 variedades de maíz evaluadas). Si observamos en el cuadro No. 1 estas diferencias notaremos que el maíz blanco reportó un grosor de 4.53 mm, éstos son datos superiores a los del maíz azul que solo sobresale por el largo del grano (12.58 mm).

### Objetivo No. 3

#### Actividad 3.1 Extracción de Pigmentos del maíz

Los resultados fueron los siguientes, dentro de las cajas petri y de los cilindros colocados en determinados pigmentos se logró observar la formación de un alveolo el cual nos indica que no creció el hongo cerca del pigmento, esta característica la presentaron solo los cilindros que contenían los pigmentos de los maíces amarillo y blanco, mientras que los cilindros de los pigmentos rojo y azul el hongo creció alrededor sin la aparición de el alveolo mencionado anteriormente.



**Fig. 7 Resultados del crecimiento del hongo alrededor de los cilindros metálicos conteniendo los pigmentos**

**a) Pigmento Amarillo (Se puede observar el alveolo alrededor del cilindro)**

**b) Pigmento Rojo; c) Pigmento Azul; d) Pigmento Blanco**

## Objetivo No. 4

### Actividad 4.1 Determinación y cuantificación de aflatoxinas

#### MUESTREO No. 1

En el primer muestreo que corresponde al día 15 se determinó la cuantificación de aflatoxinas y se hizo por el método de columnas de inmunoafinidad (AFLAtest); los resultados obtenidos se muestran en la gráfica No. 1, donde podemos apreciar que quien presentó mayor producción de aflatoxinas fue el maíz azul con 426,6 ppb seguido del maíz rojo con una producción de 224,6 ppb, después el maíz amarillo con 77.33 ppb y finalmente el maíz blanco con 31.66 ppb.

Sin embargo estadísticamente no hay diferencia ( $P > 0.05$ ). Tabla No. 4

**Tabla No. 8**

#### DATOS ESTADÍSTICOS DE LAS CUATRO VARIEDADES DE MAÍZ

Período de incubación    15 días                                  25 días                                  35 días

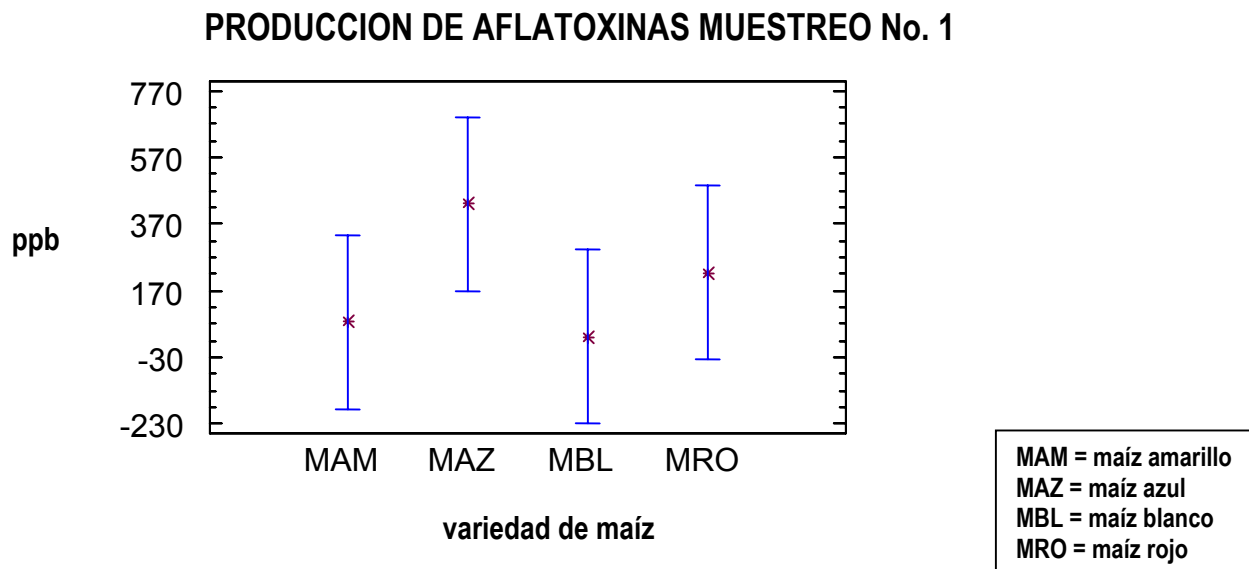
Variedad de Maíz	Media	D.S	Media	D.S	Media	D.S
<b>Maíz amarillo</b>	77.333 +/-	114.99	2.666 +/-	2.51	1.666 +/-	1.15
	<b>a</b>		<b>a</b>		<b>a</b>	
<b>Maíz azul</b>	429.667 +/-	469.01	99.33 +/-	21.0	313.333 +/-	66.58
	<b>a</b>		<b>a</b>		<b>ab</b>	
<b>Maíz blanco</b>	31.666 +/-	9.81	61.0 +/-	103.05	583.333 +/-	140.11
	<b>a</b>		<b>a</b>		<b>bc</b>	
<b>Maíz rojo</b>	224.667 +/-	273.08	56.333 +/-	27.39	886.667 +/-	361.43
	<b>a</b>		<b>a</b>		<b>c</b>	

\*LITERALES DIFERENTES EN CADA COLUMNA INDICAN DIFERENCIA ESTADÍSTICA SIGNIFICATIVA  $p$  (MAYOR 0,05)

D.S.= Desviación Standard; a, b, c,= Literales estadísticas



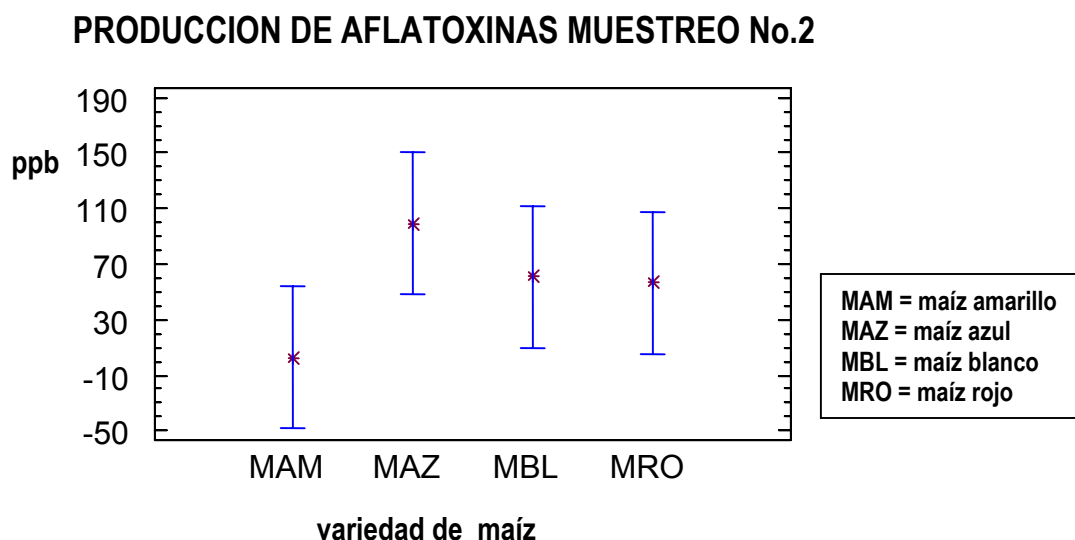
## GRAFICA No. 1



## MUESTREO No. 2

En estos resultados que corresponden al día 25 se puede notar que el maíz que tuvo mayor concentración de aflatoxinas fue el maíz azul con 99.3 ppb seguido del maíz blanco con 61 ppb, el maíz rojo con 56.3 ppb y finalmente el maíz amarillo con una escasa producción de aflatoxinas de 2.66 ppb, estadísticamente no presentaron diferencia. Tabla No. 4, gráfica No. 2

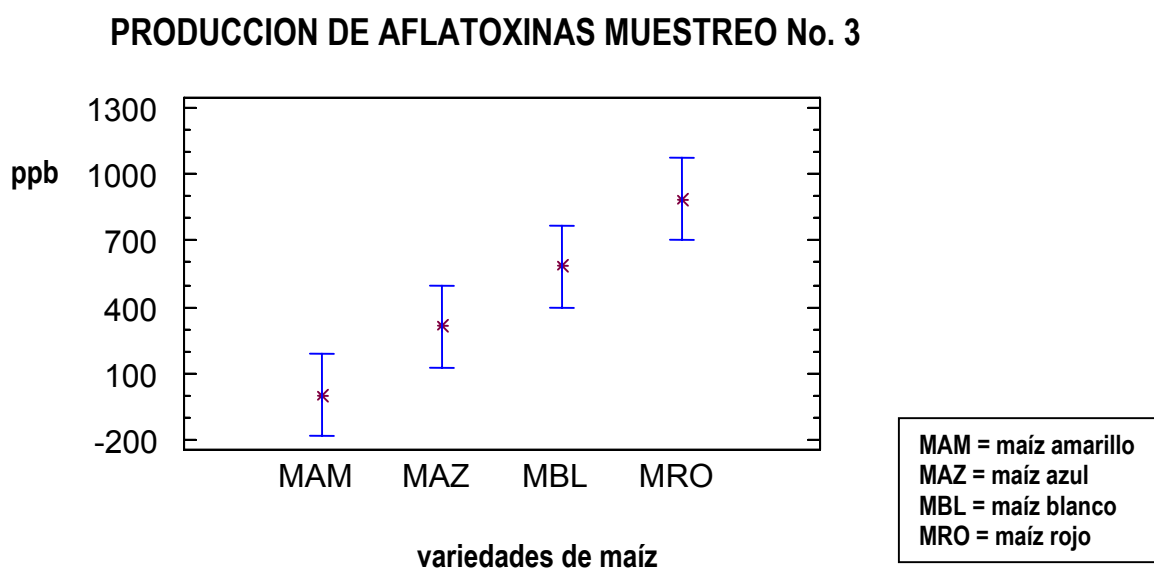
## GRAFICA 2



El tercer muestreo corresponde al día 35, los resultados obtenidos se mostraran en la gráfica No. 3. los datos de producción de aflatoxinas en los maíces fueron colocados en orden ascendente; en primer lugar el maíz rojo con una producción de aflatoxinas de 886.66 ppb (el dato más alto reportado en este trabajo y en general sobre todos los maíces aquí estudiados ), en segundo lugar el maíz blanco con una producción de 583.33 ppb (dato que no había reportado este maíz hasta esta gráfica) en tercer lugar esta el maíz azul con una producción de 313.3 ppb y en último lugar se encuentra el

maíz amarillo, que en todos sus resultados reportó una producción muy baja de aflatoxinas, muy por debajo de la producción de las otras variedades de maíz.

Estadísticamente la mayor concentración de aflatoxinas se observó en el maíz rojo y blanco (en comparación con los maíces azul y amarillo)  $p < 0.05$ . Tabla No. 4



# **CAPITULO IV**

## DISCUSION DE RESULTADOS

Dado que la finalidad de este trabajo es conocer si existe una relación directa entre la producción de aflatoxinas y los pigmentos, debemos tener claro que los pigmentos contenidos en los granos de maíz utilizados para la experimentación; los maíces azul y rojo contienen antocianinas mientras que los maíces blanco y amarillo contienen carotenoides que a su vez se dividen en carotenos y xantofilas (**Badui, 1999**)

### Características físicas

En cuanto a las propiedades físicas del grano tenemos que el valor electrolítico (el número de granos de maíz que ocupan cierto volumen) es diferente para cada maíz, el que mostró menores dimensiones fue el maíz azul, así que se necesitaran más granos de este maíz para tener en total los 200 g requeridos para cada muestra, mientras que para los otros maíces, los granos necesarios para 200 g fueron menos, ahora bien, creemos que si tenemos mayor número de granos de maíz azul, la superficie de contacto que ocuparan las esporas por la cantidad de granos es mayor, en consecuencia estas tienen un nivel de competitividad menor en cuanto a su fuente de alimentación es decir existe un contenido de sustrato disponible mayor, **Moreno y Gutiérrez (1991); Valladares (1992)**, otro dato importante es que la dureza también fue menor y podría considerarse un grano con mayor susceptibilidad al ataque de hongos y aflatoxinas, dado que su estructura puede ser fácilmente penetrada por estos microorganismos y así comenzar la producción de aflatoxinas.

## Muestreo No. 1

Como se describió en el capítulo anterior los resultados del primer muestreo, la mayor producción de aflatoxinas, se dio en los maíces de color azul y rojo. Nuestros datos no concuerdan con un estudio realizado por **Prasad y Wergle (1976)**, quienes reportaron que aunque se reconoce ampliamente el daño que los diferentes patógenos ocasionan a las semillas, muchas de ellas se mantienen sanas debido a mecanismos de defensa que pueden ser expresados mediante la pigmentación o por medio de su estructura, estos autores mencionan que las semillas que son de color oscuro a diferencia de las de color claro, tienen la testa más gruesa y presentan poca afinidad al agua por lo que su capacidad de absorción de agua es menor y por tanto la presencia y producción de microorganismos es menor, estas características confieren a la semilla cierta resistencia a patógenos como por ejemplo, *Fusarium* y *Rhizoctonia*, **Gnanamanickman y Patil (1977)**.

Las diferencias estructurales entre el maíz y el frijol son muy evidentes sin embargo comparten algunas características similares, como por ejemplo el tipo de pigmentos. Retomando lo antes mencionado por **Gnanamanickman y col., (1977)**, al considerar más resistentes las semillas de color más oscuro que las de color más claro, podemos notar que nuestros datos contrastan totalmente con lo dicho por el autor, nuestros resultados mostraron que los maíces de colores más intensos (maíz azul y rojo) fueron más susceptibles a la producción de aflatoxinas y los maíces de color claro (amarillo y blanco) presentaron menos concentración de aflatoxinas.

## Muestreo No. 2

En el segundo muestreo los datos no presentaron diferencia estadística, aunque si observamos, la producción de aflatoxinas disminuyo en general, esta reducción se la podemos atribuir a una disminución de oxígeno en el ambiente del almacenamiento, ya que en un estudio realizado por **Landers y col. (1967)** determinó que entre menor sea el contenido de oxígeno y el porcentaje de dióxido de carbono no sea muy alto (aproximadamente un 40%) la producción de aflatoxinas podría verse inhibida, así que los frascos utilizados para colocar los granos del segundo muestreo se encontraban cerrados, dando lugar a un microambiente poco favorable para la producción de aflatoxinas.

El maíz que tuvo un comportamiento de acuerdo a la cinética de producción de producción de aflatoxinas fue el maíz blanco, es decir que cuanto más se incrementa el tiempo de incubación la producción de aflatoxinas se eleva (**Valladares, 1992**).

Los datos de los maíces azul, rojo y amarillo no presentan un incremento en la producción de aflatoxinas sino por el contrario se noto un decremento en los resultados, esto pudo deberse a que en este muestreo la homogenización de los maíces antes mencionados no fue adecuada tomando en cuenta que al momento de tomar la muestra las toxinas no se encuentran uniformemente distribuidas en el alimento (maíz) (**Valladares, 1992**).

### Muestreo No. 3

En el tercer muestreo los resultados mostraron una diferencia estadística muy marcada, como se puede observar en la tabla No. 4, los resultados se presentaron en forma ascendente

El maíz rojo a partir del segundo muestreo fue comportándose de manera esperada en cuanto a la cinética de producción de aflatoxinas (o sea que la producción de aflatoxinas sería directamente proporcional a los períodos establecidos en tiempo), demostrando que el hongo se encontró en las mejores condiciones de crecimiento (tiempo, nutrimentos y condiciones de temperatura y humedad) (**Valladares, 1992**).

El estudio llevado a cabo por **Valladares (1992)** muestra el comportamiento de la producción de aflatoxinas respecto al tiempo de incubación donde efectivamente comprobó que la producción se elevaba conforme pasaban los períodos establecidos para la producción

La producción de aflatoxinas en el maíz blanco fue exactamente el comportamiento que se esperaba desde un inicio para todas las variedades, sin embargo el único que tuvo el desarrollo esperado fue el maíz blanco, que desde el inicio de los períodos de incubación tuvo una producción de aflatoxinas en forma idónea, esto es que la producción aumentara conforme pasaron los días a los que fueron sometidas las muestras.

El comportamiento del maíz azul al inicio en el primer muestreo tuvo una considerable producción de aflatoxinas para el segundo muestreo la producción descendió significativamente, posteriormente para el tercer muestreo volvió a incrementarse, y en este último muestreo el maíz azul fue disminuyendo su producción, dado que si se



toma en cuenta el ciclo de vida del hongo, tenemos que crece, se reproduce llegando a su punto óptimo de crecimiento, posteriormente comienza a entrar a una etapa decreciente, en donde también los nutrimentos ya no son los mismos por lo tanto deja de existir la fuente de alimentación provocando, que esa fuente sean a su vez otros mismos hongos, podría atribuírsele la disminución de la presencia de aflatoxinas en este maíz azul.

En el caso del maíz amarillo, como ya habíamos mencionado contiene flavonoides que son metabolitos que le confieren a las semillas un sistema o mecanismo de defensa natural contra patógenos, además por otro lado se ha indicado que los compuestos fenólicos también exhiben un amplio espectro de actividad microbiana contra patógenos en plantas, su toxicidad depende de varios factores como: concentraciones, microorganismos blanco; un ejemplo muy claro, respecto al estudio realizado, es que en hongos afecta la germinación de esporas, crecimiento del micelio y otras características relacionadas a la patogénesis como es la producción y actividad de enzimas y toxinas; pero los mecanismos por los cuales se lleva a cabo lo anterior se desconoce **Valadez y Col. 1990; Prasad y Weigle, (1976).**

Aquí tenemos la razón más precisa o al menos la explicación más cercana a la baja producción de aflatoxinas del maíz amarillo durante toda la experimentación es decir los tres períodos de incubación a los que fueron sometidos las cuatro variedades de maíces de colores.

## CONCLUSIONES

Basados en los resultados que se obtuvieron mediante todo este trabajo, se exponen las siguientes conclusiones.

- Se considero que efectivamente los pigmentos como las antocianinas y los carotenoides (contenidos en el maíz blanco y amarillo) pudieron ejercer una influencia sobre la producción de aflatoxinas. Y dado que el maíz blanco y amarillo son ricos en este pigmento la producción de aflatoxinas fue menor que para las otras variedades de maíz.
- La humedad junto con la temperatura son de los factores más importantes que determinan el desarrollo y la producción de aflatoxinas. La humedad a la que se ajustaron los granos fue la adecuada para la producción de aflatoxinas, lo cual nos permitió evaluar como los pigmentos de los diferentes tipos de maíz si tienen un efecto sobre la producción de aflatoxinas.
- Las características físicas de los maíces empleados en este estudio, consideramos que fueron un factor importante para la producción de aflatoxinas , que como ya se explico con anterioridad, parece ser que los granos con dimensiones más grandes (maíz rojo y azul) presentaran una producción de aflatoxinas mayor que los de menor tamaño (maíz amarillo y blanco), esto es, los maíces de mayor tamaño tienen en consecuencia una superficie de contacto más amplia y además una mayor cantidad de nutrimentos disponibles para los microorganismos en cuestión (aflatoxinas). Así que podemos concluir que los granos de mayor tamaño son más susceptibles al ataque y producción de aflatoxinas.

## REFERENCIAS CITADAS

1. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemists. The Association; Arlington VA.
2. Banks H.J. 1981 Effects of controlled atmosphere on grain quality; a review Food Technol. In. Australia. Vol. 33:335-340.
3. Bennett, J.W., Fernholz F.A., Lee L.S. 1978. Effect of light on aflatoxins Anthraquinonics and Sclerotia in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Mycol.70:104.
4. Betina V. 1989 Biological aspects of micotoxins. Chap.3, Chemical Biological and Enviromental Aspects. Elsiever. N. Y., U.S.A. pp. 42,433.
5. Bhatnagar D., Cleveland T.E., Cotty P.J. 1994. Micological aspects of aflatoxina formation. In: Eaton D.L., Groopman J.D. eds., The toxicology of aflatoxins, Academic Press London. 327-346.
6. Boyer C.D. and Shannon, J. C. 1987 Carbohydrates of the Kernel. S.A. Watson and P.E: Ramstad eds. Corn Chemistry and Technology. pp. 253-272. St. Paul Minnessota U.S.A. Am Assoc. Cereal Chem.
7. Bressani R., Campos A.M., Squibb R.L, and Scrimshaw N.S. 1953. Nutritive value of Central American corns. The carotene content of thirty-two selections of Guatemala corn. Food Rev. Vol. 18: 618-624.
8. Bressani R., Elías L.G. y Braham J.E. 1968. Suplementación con aminoácidos del maíz y de la Tortilla Arch Latinoam nutr. Vol. 18:123-134.
9. Bullerman L.B.1979 Mycotoxins. In Foods and Beverage Mycology, eds L.r. Beuchat. AVI Publishing Company West Port, CT.397-444.

10. Das C., Mishra H.N. 2000. In vitro degradation of aflatoxin B1 by horse radish peroxidase. Food Chem. Vol. 68: 309-313.
11. Davies N.D., Diener U.I. Agnihotri V.P. 1967. Production of aflatoxina B1 and aflatoxina G1 in chemically defined medium by *Aspergillus flavus* . Mycol. Appl. Vol.13:251.
12. Davies N.D., Diener U.L.1968. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* from various carbon source. Appl. Microbiol. Vol.16:158
13. Dharmaputra O.S., Retnowati I., Amand M., Ambarwati S.2000. Airlight Storage of Maize: it's Effect on fungi infection and aflatoxina Production G. I. Johnson Le Von to, Nguyen duy Due and M.C. Webb eds. ACIAR Proccedings, Indonesia. pp.474-482.
14. Dixon R.C., Hamilton P.B. 1981. Effects of feed ingredients on yhe antifungal activity of propionate. Poultry Sci. Vol. 60:2407.
15. Doyle P. Michael, Beuchat, R. Montville Larry, Thomas J. 2001. Microbiología de los Alimentos: fundamentos y fronteras. España. pp. 413-421.
16. Drew S.W. and Demian A.L. 1987 Effect of primary metabolites on secondary metabolism. Ann. Rev. Microbiol. Vol. 31:343-356.
17. El-Bazza Zeinab E.M. Farrag, Hala A. El-Fouly Foje E.D.Z. El-Tablawy Seham Y.M. 2001. Inhibitory effect of gamma radiation and Nigellias sativa seeds oil on growth, spore germination and toxin production of fungi. Rad. Phys and Chem. Vol.60:180-189.
18. Ellis W.O., Smith J.P., Simpson B.K., Oldham J.H. 1991. Aflatoxins in food: ocurrente, biosíntesis, effects on organisms detection and methods of control. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. Vol.30:403-439.
19. FAO. 1993. El maíz en la Nutrición Humana. U.S.A. pp.2-7,15-40.

20. FAO: 1991. Manuales para el control de calidad de los alimentos: Capacitación en análisis de micotoxinas. Edit. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación. Vol.10. Roma.
21. Fennema R. Owen. 1985. Introducción a la ciencia de los alimentos. Edit. Reverté. 1ª Edición. España. pp. 286-287.
22. Frazier W.C., Westhoff D.C. 2000. Microbiología de los Alimentos. Edit. ACRIBIA 4ª Edición. España. pp.583-588.
23. García A.G., Martínez F.R., Melgarejo H.J. 2001. Inspección para aflatoxinas en el maíz almacenado o transportado en el estado de Sonora. Informe técnico. Canales del Instituto de Biología UNAM. Serie Botánica. Vol. 72:187-193.
24. Gareis M., Bauer J. Von Montgales A., Gedek B. 1984. Stimulation of aflatoxin B1 and T-2 toxin production by sorbate. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 47:416.
25. Gimeno A. 2003. Principales factores condicionales para el desarrollo de hongos y la producción de micotoxinas. <http://www.engormix.com/nuevo/prueba/micotoxinas.asp>
26. Gimeno Alberto, Ligina Martins M. I Simposium Panamericano de Micotoxinas para la Industris. Abril 1-4, 2003. ciudad de México.
27. Gnanamanickam S.S. and Patil. 1977. Phaseotoxia suppresses bacterially induced hypersensitive reaction and phytoalexin synthesis in cultivars, physol, Plant Pathol. Vol.10:169-179.
28. Goldblatt A., L.1969. Aflatoxin; Scientific Background control and implications. Edit. Academic Press. N.Y. pp. 34-35.
29. Gonzales H.H.L., Resnik S.L., Vaamande G. 1987. influence of inoculum size on growth rate and lag phase of fungi isolated from Argentine corn. Int. J. of food Microbiol. Vol.4:111-117.
30. Gutiérrez Díaz Luis J., Gümes Guillén Martha J. 1999. Manejo Poscosecha de maíz en el Estado de Morelos. INIFAP. pp. 1-6.

31. Hogan A.G., Gillespie G.T., Kocturk O., O'Dell, B.L. y Flynn L.M. 1955 The percentage of protein in corn and its nutritional properties. J. Nutr. Vol. 57:225-239.
32. Howe E.E., Janson G.R. and Gilfillan, E.W. 1965. Amino acid supplementation of cereal grains as related to the world food supply. Am. J. Clin. Nutr. Vol. 16:315-320.
33. <http://www.covenin.com>.
34. <http://www.futurosyopciones.com/granos/producción/especiales/maíz>.
35. Hyde M.B. 1965. Principles of wet grain conservation. J. AND Proc., Inst Agr. Eng. Vol. 21:75-82.
36. Izquierdo C. Pedro, Rojas V. Evelyn, Rangel Lisbeth, Márquez S. Enrique. 1995. Presencia de aflatoxinas en algunos Alimentos. Rev. Fac. Agronomía. Vol.13:485-492.
37. Jinks J.L. 1969 Selection for adaptability to new environment in *Aspergillus glaucus*, J. Gene Microbiol. Vol. 20:223
38. Karunaratne A., Bullerman L.B.1990. Interactive effects of spore load and temperature on aflatoxin production. J. Food Prot. Vol.53:227.
39. Kawasugi S. Hwashima K., Siracha P. 1994. Prevention of aflatoxin contamination in that maize. Distribution of maize with high moisture content and methods of control of *Aspergillus flavus infection*. JIRCAS Journal. Vol. 1:9-17.
40. Krishna S.B., and Sinha K.K. 1991. Aflatoxins their biological effects and ecological significance. In: Mycotoxins in Ecological Systems. Bathnager D. Lillehoj E.B. and Arora, D.K. eds. Marcel Dekker. N.Y. pp.59-85
41. L. Paliwal, Ripusudan. 2001. El Maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Edit. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.

42. Landers K.E., Davis N.D. and Diener U.L. 1967. Influence of atmospheric gases on aflatoxina production by *Aspergillus flavus* in peanuts. *Phytopathology*, Vol. 57:1086-1090.
43. Lie J.L., Math E.H. 1968 Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in a casein substrate at different pH values. *J. Dairy Sci.* Vol.51:1743.
44. Lillehoj E.B. 1991 Aflatoxin: genetic mobilization agent. In: *Mycotoxins in Ecological Systems* Bathnagar D. Lillehoj E.B. and Arora, D. K. eds Marcel Dekker N. Y. pp.1-22.
45. Lisker N. and Lillehoj E.B. 1991 Prevention of mycotoxin contamination (principally aflatoxins and *Fusarium* toxins) at the preharvest stage. In *Mycotoxins and animal Foods*. eds J.E. Smith and R.S. Henderson Acrc Press Inc. Boca Raton. Pp.689-719.
46. Wolf M. J., C.L. Buzan, M. M. MacMaster, and C. E: Rist. 1952. Structure of the Mature \_Corn Kernel. I. Gross Anatomy and Structural Relationship. *Cereal Chem.* Vol. 29:321-333.
47. Magno K.K, Gupta S.K. and Venkitasubramanian T.A. 1997. Biosíntesis of aflatoxins. *Rev. Bacteriol.* Vol. 41:822-855.
48. Mann G.E., Codifer L.P. J Gradner H.K., Koltum S.P., Dollear F.G. 1970. Chemical inactivation of aflatoxins in peanut and cotton seed meals. *J. Am O.I. Chem. Soc.* Vol. 47:173-176.
49. Masimango N., Remade J., Ramaut J.L. 1978. The role of adsorption in the elimination of aflatoxin B1 from contaminated media. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 6:101-105.
50. Mertz E.T., Bates L.S. y Nelson O.E. 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, Vol. 145:279-280.

51. Mitchell H.H. and Smuts D.B. 1932. The amino acid deficiencies of beef, wheat, corn, oats and soybeans for growth in the white rat. J. Biol. Chem, Vol. 95:263-281.
52. Moreno M.E. and Ramírez G.J. 1985. Protective affect of fungicides on corn seed stored with low and high moisture content. Seed Sci. and Technol. Vol. 13:285-290.
53. Moreno M.E. Méndez A., Ramírez G.J. 1987. Comportamiento de la semilla de maíz (*Zea mays* L.) bajo diferentes sistemas de almacenamiento. Turrialba Vol. 37:267-274.
54. Moreno Martínez E., Gil Gutiérrez M. 1991. La biología de *Aspergillus flavus* y la Producción de aflatoxinas. Edit. UNAM. 1ª Edición . México.
55. Museo Nacional de Culturas Populares. 1987. El Maíz. SEP-Dirección General de Culturas Populares. México. p.114.
56. Northington-Schneider. 1996. The Botanical World. 2ª Edición. U.S.A.
57. Northolt M.D., Verhulsdank C.A., Soentoro P.S., Paulsh W.E.1976. Effect of water activity and temperature on aflatoxina production by *Aspergillus parasiticus*. J. Milk Food Technol. Vol.39:170-174.
58. Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemists, AOAC.1990.
59. Peña D.S., Durán M.C. 1990. Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta. Ciencia y Desarrollo, vol.16:61-72.
60. Peñalver Conesa Pedro. ANAPORC II Simposium. 5-6 Diciembre. España. 1979 Micotoxicosis en la alimentación animal. Edit. JIMON. pp. 85-119.
61. Prasad K. and L.J. Weigle.1976. Association of seed coat factors with resistance to *Rhizoctonia solani* in *Phaseolus vulgaris*. Phytopatology. Vol. 66:342-345.



62. Praveen R.J., Subramanyam C. 1999. Requirement of Ca<sup>+</sup> for aflatoxin production: inhibitory effect of Ca<sup>2+</sup> channel blockers on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. NRRL 2999 Letters in Appl. Microbiol. Vol.28:85-88.
63. Purchase I.F.H., Steyn M. Rinsma R., Tsin R.C. 1972. Reduction of the aflatoxina M content of milk by processing. Food Cosmet. Toxicol. Vol.10:383-388.
64. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M. J. 1993. Enciclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. Vol. 4. Academic Press. London-San Diego.
65. Roberts Howard R. 1986. Sanidad Alimentaria. Edit. ACRIBIA. España. pp.158-169.
66. Raecker M.O., Bern C.J., Johnson L.A., Glatz B.A. 1992 Preservation of high moisture maize by various propionate treatments. Cereal Chem. Vol. 69:66-69.
67. Rodríguez del Bosque L.A. 1996. Impact of agronomic factors in aflatoxina contamination in preharvest field corn in northeastern México. Plant Dis. Vol. 80:988-993.
68. Roebuck B.D., B.D. Maxuintenko Y.Y. 1994. Biochemical mechanisms and biological implications of the toxicity of aflatoxins as related to aflatoxina carcinogenesis chap. 2, en: The toxicology of aflatoxins D.L. Eaton and J.D. Groopman eds Academic Press, San Diego pp.27-43.
69. Rustom I.Y.S. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence legislation and inactivation by physical methods. Food Chem. Vol. 59:57-67.
70. Salinas Moreno Y., Soto Hernández M., Martínez Bustos F., Gónzales Hernández V., Ortega Pazka R. 1999. Análisis de Antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. Rev. Fototec. Mex. Vol.22:161-174.
71. Samarajeewa U. Sen, A.C. Cohen M.D. , Wei C.I. 1990

72. Santha T. Murthy, V.S. Rat E.R., Prema V. 1986. Detoxification of groundnut seeds by urea and sunlight. *J. Food Safety*. Vol.7:299-304.
73. Santha T., Murthy V.S., Rat E. R., Prema V. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *J. Food Protect* Vol. 53:489-501.
74. Saver D.B. and burroughs R. 1974. Efficacy of various chemicals as grain mould inhibitors *Transactions American Society of Agriculture Engineering*. Vol. 17:557-559.
75. Schoroeder H.W., Hein H.1967. Aflatoxins: production of the toxins in vitro in relation to temperature. *Appl. Microbiol*. Vol.15:441.
76. Smith J.E., Moss M. 1985. *Mycotoxins Formation Analysis and Significance*, Wiley and Sons U.K.
77. Stanley A. Watson, E. Ramstad Paul. 1987. *Corn: Chemistry and Technology*. Published by the A.A.C.C. St. Paul Minnesota, U.S.A.
78. Stoloff L., Truckness M., Hardin N., Francis O.J., Hayes J.R., Polan C.E., Campbell T.C. 1975. Stability of aflatoxina M1 in milk. *J. Dairy Sci*. Vol. 58:1789-1793.
79. Straus J. 1959. Anthocyanin synthesis in corn endosperm tissue cultures. I. identity of pigments and general factors. *Plant Physiology*. Vol.34:536-541.
80. Fossen T. R., Slimestad and O. M. Andersen J. 2001. *Food Chemistry*. Vol. 49:2318-2321.
81. T. P. Coultate. 1998. *Manual de Química y Bioquímica de los alimentos*. Edit. ACRIBIA. 2ª Edición. España. pp. 143-155.
82. Juárez Cipres Rocío del Carmen. *Caracterización física de 10 variedades de maíz (Zea mays) y su influencia en la nixtamalización*. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Cuautitlán Izcalli, EdoMex. 1997. TESIS

83. Moreno Lara Josefina. Estudio Comparativo de *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus parasiticus* Speare en la producción de aflatoxinas bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura. Facultad de estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. Cuautitlán izcalli. EdoMex. 2004. TESIS
84. Valladarez de la Cruz Juan Carlos. Efectos del consumo de aflatoxinas y de la vacunación con el virus de la infección de la bolsa de Fabricio en el pollo de engorda. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM Cuautitlán Izcalli, EdoMex. 1992. TESIS
85. Townsend C.A., Christensen S.B., Trauwein K. 1984. Hexanoate as a starter unit in polyketide synthesis. J. Amer. Chem Soc. Vol. 106:3868-3869.
86. Valadez Moctezuma Ernestina, Carballo C. A., Ortega D. M. Luisa, Fucikovskiy Z. Leopoldo. 1999. Pigmentos de la testa del frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) Como inhibidores del desarrollo *in-vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli* y *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola*. Rev. Fitotec. Mex. Vol.22:151-159.
87. Watson S.A. 1962. The yellow carotenoid pigments of corn. En W. Hechendorf and J.J. Sutherland, eds. Proc. Corn. Res. Conf 17 th Washington D.C Am Seed Trade Assoc.
88. Widstrom N.W., McMillan W.W., Wilson D.M. 1987. Segregation for resistance to aflatoxina contamination among seeds on an ear of hybrid maize Crop. Sci. Vol.27:961-963.
89. Wogan G.E. and P.M. Newberne. 1967. Dose-response characteristics of aflatoxina B1 carcinogenesis in the rat cancer Res. 27:543-548.
90. Yousef A.E., Marth E.H. 1983 Incorporation of (C <sup>14</sup>) acetate into aflatoxina by resting cultures of *Aspergillus parasiticus* in the presence of antifungal agents. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotech. Vol.18:103.

91. Zeringue Jr. H.J., McCormick S.P. 1990. Aflatoxin production in cultures of *Aspergillus flavus* incubated in atmospheres containing selected cotton leaf-derived volatiles toxic. Vol 28:445-448.
92. Zeringue Jr. H.J.; Brown R.L.; Newere J.N., Cleveland T.E. 1996. Relationships between C6-C12 alkane and alkene volatile contents and resistance of maize genotypes to *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. J. Agric. Food Chem. Vol.44:403-407.
93. Zuber M.S., Darrah L.L., Lillehoj E.B., Josephson L.M. Manwiller, Scout G.E., Gudauskas R.T., Horner E.S., Widstrom N.W., Thompson D.L. Bockholt A.J., Bruebaker J.I. 1983. Comparison of open-pollinated maize varieties and hybrids for preharvest aflatoxin contamination in the southern United States. Plant Dis. Vol.67:185-187.
94. Lindon G., Lorient D. 1996. Bioquímica Agroindustrial: Revaloración alimentaria de la producción Agrícola. Edit. Acribia. España.
95. Vicam Science and Technology. 1999. Instruction Manual AflaTest.U.S.A.
96. Othon R., Saldivar Serna. 2001. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. Edit. AGT, S.A. México